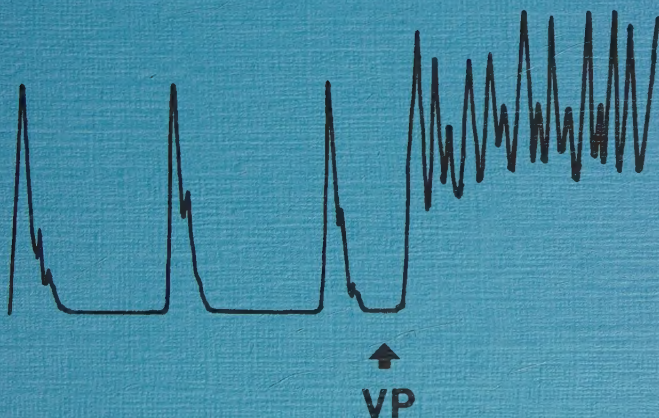


Per Strömberg

# Vasopressin hos icke gravida kvinnor

Insöndring, uteruseffekter och  
betydelse vid menstruationssmärta



Lund 1983



Från  
Institutionen för Obstetrik och Gynekologi i Lund,  
Lunds Universitet

# Vasopressin hos icke gravida kvinnor

Insöndring, uteruseffekter och  
betydelse vid menstruationssmärta

Per Strömberg

Lund 1983



Printed in Sweden  
Studentlitteratur  
Lund 1983

Till  
Annelie, Andrea och Philip



# INNEHÅLL

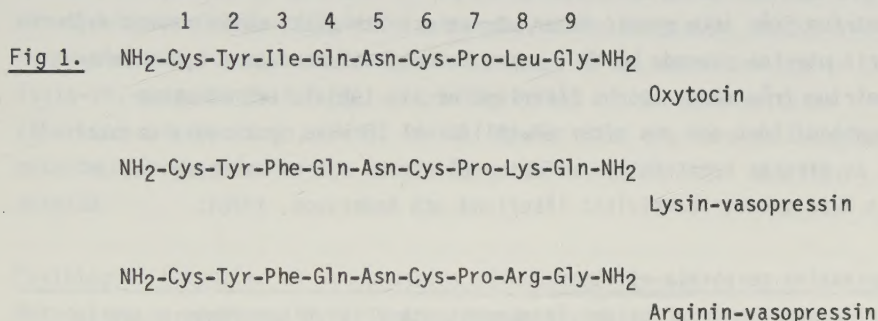
|                                                                                                                                                                       |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Delarbeten                                                                                                                                                            | 6  |
| INTRODUKTION                                                                                                                                                          | 7  |
| Syftet med undersökningarna                                                                                                                                           | 12 |
| MATERIAL OCH METODER                                                                                                                                                  | 13 |
| Försökspersoner                                                                                                                                                       |    |
| Undersökningarnas uppläggning                                                                                                                                         |    |
| Blodprovstagningar och registrering av symptom                                                                                                                        |    |
| Hormonanalyser                                                                                                                                                        |    |
| Registrering och kvantifiering av uterusaktivitet                                                                                                                     |    |
| Statistiska metoder                                                                                                                                                   |    |
| RESULTAT MED KOMMENTARER                                                                                                                                              | 18 |
| Vasopressinkoncentration i plasma hos kvinnor med och utan primär dysmenorré                                                                                          |    |
| Vasopressin vid primär dysmenorré före och efter hämning av prostaglandinsyntes                                                                                       |    |
| Vasopressinkoncentration i plasma under menstruationscykeln                                                                                                           |    |
| Ovarialhormonernas inverkan på vasopressininsöndringen                                                                                                                |    |
| Uterusaktivitet och plasmakoncentration av prostaglandin                                                                                                              |    |
| F-metaboliter vid vasopressinstimulering                                                                                                                              |    |
| Uterusaktivitet och plasmakoncentration av arginin-vasopressin vid prostaglandin $F_{2\alpha}$ -stimulering                                                           |    |
| Plasmakoncentrationer av vasopressin och prostaglandin F-metaboliter och deras relation till symptomens svårighetsgrad vid premenstruell smärta och primär dysmenorré |    |
| DISKUSSION MED SLUTSATSER                                                                                                                                             | 26 |
| Insöndring av vasopressin                                                                                                                                             |    |
| Vasopressins effekter på uterus                                                                                                                                       |    |
| Vasopressins betydelse vid menstruationssmärta                                                                                                                        |    |
| KONKLUSION                                                                                                                                                            | 34 |
| EFTERSKRIFT                                                                                                                                                           | 35 |
| REFERENSER                                                                                                                                                            | 36 |

Avhandlingen är baserad på följande delarbeten, till vilka hänvisning sker i texten med de angivna romerska siffrorna.

- I Åkerlund, M., Strömberg, P. & Forsling, M.L.:  
Primary dysmenorrhoea and vasopressin.  
Br J Obstet Gynaecol 86:484-487, 1979.
- II Strömberg, P., Forsling, M.L. & Åkerlund, M.:  
Effects of prostaglandin inhibition on vasopressin levels in women with primary dysmenorrhea.  
Obstet Gynecol 58:206-208, 1981.
- III Forsling, M.L., Åkerlund, M. & Strömberg, P.:  
Variations in plasma concentrations of vasopressin during the menstrual cycle.  
J Endocrinol 89:263-266, 1981.
- IV Forsling, M.L., Strömberg, P. & Åkerlund, M.:  
Effect of ovarian steroids on vasopressin secretion.  
J Endocrinol 95:147-151, 1982.
- V Strömberg, P., Åkerlund, M., Forsling, M.L. & Kindahl, H.:  
Involvement of prostaglandins in vasopressin stimulation of the human uterus.  
Br J Obstet Gynaecol 90:000-000, 1983. In press.
- VI Strömberg, P., Åkerlund, M., Forsling, M.L., Granström, E. & Kindahl, H.:  
Vasopressin and prostaglandins in premenstrual pain and in primary dysmenorrhea.  
Acta Obstet Gynecol Scand, 1983. Submitted for publication.

## INTRODUKTION

Termerna vasopressin (VP) och oxytocin (OXY) introducerades för många år sedan när man just börjat kunna skilja ut två distinkt olika typer av biologisk aktivitet i extrakt från neurohypofysen (Dudley, 1919). Benämningarna skulle antyda de två olika typerna av aktivitet. I korthet ansågs "oxytocin" relaterat till en specifik uterusammandragande effekt och "vasopressin" till en specifik vasopressoreffekt. Senare kunde substanserna extraheras och aminosyresekvensen för OXY, arginin-VP och lysin-VP klarlades i början på 1950-talet (Pierce och du Vigneaud, 1950; Turner, Pierce och du Vigneaud, 1951; Poponoe, Lawler och du Vigneaud, 1952; Acher och Chauvet, 1953). Arginin-VP förekommer hos människa och de flesta andra däggdjur. Hos t ex svin och flodhäst förekommer istället lysin-VP. Det enda som skiljer dessa tre nonapeptider är att aminosyrorna i tre och åtta ställning varierar (Fig 1).



Den fortsatta utvecklingen på detta område har visat att VP har ett flertal biologiska effekter

### Antidiures

VPs dominerande fysiologiska roll är dess inverkan på urinutsöndringen och därmed också på kroppens vattenbalans. VP i nanogramdoser kan orsaka antidiures, dvs minskad urinutsöndring genom ökad återresorption av vätska i distala njurtubuli (Forsling, 1976a). Termen antidiuretiskt hormon har också sedan länge använts synonymt med VP. VP åstadkommer genom sin antidiuretiska effekt att förskjutningar av det osmotiska trycket justeras, så att detta hålls relativt konstant omkring 290 mosmol/l (Forsling, 1976a). Så små osmolalitetsförändringar som 1% kan orsaka en signifikant förändring av VP-sekretionen (Verney, 1947).

### Vasopressoreffekt

VPs vasopressoreffekt upptäcktes tidigt (Oliver och Schafer, 1895). Den har i första hand sin fysiologiska betydelse vid en minskning av blodvolymen. Redan en 10 %-ig blodförlust kan utlösa en moderat stegring av VP-insöndringen (Forsling, 1979). Det har tidigare ansetts att mängden endogent VP i cirkulationen under normala omständigheter är för liten för att ha någon betydande pressoreffekt. Cowley, Switzer och Guinn (1980) har emellertid nyligen visat att mellan 5 och 10 mm Hg av det normala artärtrycket upprätthålls just av den normala VP-insöndringen.

Blodkärl från skilda organ kan uppvisa olika känslighet för VP (Altura, 1967; Monos, Cox och Peterson, 1978). I den icke gravida humana livmodern har en kraftig vasokonstriktiv effekt påvisats både in vitro (Dyer och Gough, 1971; Czekanowsky och Mosler, 1973; Åkerlund, Kostrzewska, Laudanski, Melin och Vilhardt, 1983a) och in vivo (Åkerlund och Andersson, 1976).

In vitro fann man att arginin- och lysin-VP var equipotenta på myometrium från icke gravid human uterus och att glatt muskelvävnad från arteria uterina svarade på VP i samma koncentrationer som preparationer av myometrium från samma uterus (Åkerlund et al, 1983a). Det minskade uterusblodflödet som ses efter VP-tillförsel in vivo tycks vara orsakat både av direkta konstriktiva effekter på kärlen och av vasokompression p g a ökad myometriaktivitet (Åkerlund och Andersson, 1976).

### Vasopressins cerebrala effekter

Under de senaste åren har det framkommit att VP även kan fungera som en neurotransmittor (Bloom, 1981). Substansen kan ha betydelse för olika hjärnfunktioner, bl a minnet (de Wied, 1976) och vara involverat i olika beteendestörningar (Gold, Goodwin och Rues, 1978). En sänkt VP-nivå i liquor har konstaterats hos patienter med presenil demens och Parkinsons sjukdom (Sundquist, Forsling, Olsson och Åkerlund, 1983).

### Vasopressin och ovariets funktion

Nyligen har både VP- och OXY-aktiviteter identifierats och uppmätts i extrakt från humana ovarier (Wathes, Swann, Pickering, Porter, Hull och Drife, 1982). Vävnadskoncentrationen var alltför hög för att kunna förklaras av nivåerna i cirkulationen, vilket enligt författarna skulle antyda att hormonerna antingen tas upp och ackumuleras i ovarierna eller syntetiseras lokalt. Betydelsen av detta fynd är ännu oklart. Möjligen skulle VP och OXY kunna medverka i kontrollen av ovariets funktion.

### Vasopressin och myometriet

Sedan man lyckats framställa mera rena OXY- och VP-extrakt och än mera, sedan syntetiska peptider framställts, visade det sig att termerna "vasopressin" och "oxytocin" var något missledande. VP hade nämligen i den icke gravida livmodern en oxytocisk effekt som var större än oxytocinet självt (Moir, 1944). Detta fynd har senare verifierats av flera undersökare (Joelsson, Ingelman-Sundberg, och Sandberg, 1966; Embrey och Moir, 1967; Coutinho och Lopez, 1968; Bengtsson, 1970). Den icke gravida livmodern har beräknats vara 10 till 50 gånger mer känslig för VP än för OXY (Coutinho, Filho, Xavier, Fuchs och Fuchs, 1970).

Känsligheten för VP varierar dock med förändringarna i ovarialsteroider under menstruationscykeln. Under follikelfasen är effekten av VP på uterus förhållandevis begränsad, och den är minst vid ovulationstid. Strax efter ovulationen kan VP t o m orsaka en övergående relaxation i uterus enligt vissa författare (Coutinho och Lopez, 1968). Under den fortsatta lutealfasen stimulerar VP uterus alltmer så att effekten är maximal vid menstruationens början (Coutinho och Lopez, 1968; Bengtsson, 1970). Vid denna tidpunkt i menstruationscykeln har även så små doser som 0,2 IU lysin-VP, motsvarande 0,8  $\mu$ g, en kraftig effekt på uterusaktiviteten (Åkerlund och Andersson, 1976). VP har därmed visat sig vara en av de mest potenta livmoderstimulerande substanser, som man känner till hos icke gravida.

### Fysiologisk betydelse av vasopressins effekter på uterus

Betydelsen av endogent VP för den spontana uterusaktiviteten framför allt kring menstruationens början har studerats i flera undersökningar. Man har då på olika sätt försökt hämma frisättningen av VP från neurohypofysen samtidigt som uterusaktiviteten registrerats med hjälp av intrauterin tryckmätning. I tre arbeten har alkoholinfusioner givits i liknande doser som använts för att hämma oxytocininsöndringen vid prematura värkar (Fuchs, Coutinho, Xavier, Bates och Fuchs, 1968; Coutinho, 1969; Coutinho et al, 1970). Hos sammanlagt 59 av totalt 64 kvinnor, som deltog i dessa tre undersökningar noterades en markant reduktion av uterusaktiviteten. De flesta kvinnorna undersöktes vid flera olika tidpunkter i menstruationscykeln och den hämmande effekten av alkoholinfusionen var då genomgående mest uttalad vid menstruationstidens början. Livmoderns känslighet för VP reducerades inte under alkoholinfusionerna och det var möjligt att med VP-tillförsel återställa den ursprungliga uterusaktiviteten. Detta

ansågs visa att alkoholens hämmande inverkan enbart berodde på hämning av VP-insöndringen från neurohypofysen och inte på någon direkteffekt på myometriet.

I två något senare arbeten har uterusaktiviteten under menstruation studerats under infusion med plasmavolymexpanderare (Fuchs och Coutinho, 1971) och under övervätskning (Cobo, Cifuentes och de Villamizar, 1978). Båda metoderna hämmar indirekt VP-insöndringen från neurohypofysen genom påverkan av blodplasmans volym och osmolalitet. Även vid dessa två infusionsstudier noterades hos de sammanlagt 37 medverkande kvinnorna en oftast klar, ibland total hämning av uterusaktiviteten. Hämningen uppträdde parallellt med en ökning av urinnängderna (Fuchs och Coutinho, 1971) och med en nedgång i urinens osmolalitet (Cobo et al, 1978), två förändringar som ansågs vara ett indirekt uttryck för en minskad koncentration av VP i cirkulationen. I studien med plasmavolymexpanderare var uterusaktiviteten signifikant lägre än i en kontrollgrupp som också ingick i undersökningen och som fick infusion med enbart isoton koksaltlösning (Fuchs och Coutinho, 1971).

Resultaten i studierna med alkohol, plasmavolymexpanderare och övervätskning ansågs tyda på att endogent VP mycket väl kan vara ett fysiologiskt stimulus för uterus och att hormonet sannolikt bidrar till den ökade myometrieaktiviteten i början av menstruationen (Fuchs et al, 1968; Coutinho, 1969; Coutinho et al, 1970; Fuchs och Coutinho, 1971; Cobo et al, 1978). En delvis motsatt uppfattning framkom dock vid en undersökning av två kvinnor med diabetes insipidus (Åkerlund, Andersson, Bengtsson och Laudanski, 1977). Uterusaktiviteten registrerades först under pågående substitutionsbehandling med desaminocys<sup>1</sup>-D-arg<sup>8</sup>-vasopressin (DDAVP) och därefter när behandlingen seponerats med kraftigt ökade urinnängder som följd. Uterusaktiviteten initialt vid varje registrering tedde sig normal för den aktuella tidpunkten i menscykeln och endast vid en av sammanlagt sju registreringar framkom en nedgång i samband med behandlingens utsättande. Att seponering av behandlingen inte påverkade uterusaktiviteten kan förklaras av att DDAVP inte ens i full substitutionsdos hade någon inverkan av betydelse på myometriet (Åkerlund et al, 1977).

#### Bestämning av vasopressinkoncentrationer

I de flesta av de ovan refererade undersökningarna har VP-nivån uppskattats med indirekta metoder, t ex genom att iaktta förändringar i osmolalitet och/eller urinproduktion. Utvecklingen av radioimmunoassay

(RIA)-metoder för direkt bestämning av VP-koncentrationen i plasma har varit mödosam (Forsling, 1976b), men en förutsättning för mera ingående och noggranna studier av VP i olika sammanhang. I denna avhandling har samtliga VP-analyser utförts med RIA-metod (Chard och Forsling, 1976).

### De aktuella studierna

Det viktigaste incitamentet till denna avhandling var iakttagelsen av smärtsynkrona variationer i uterusblodflöde vid vissa registreringar hos kvinnor med primär dysmenorré (Åkerlund, Andersson och Ingemarsson, 1976). Dels gick blodflödet ned vid kraftiga kontraktioner samtidigt med att patienterna upplevde krampsmärtor, dels iakttogs mera långsiktiga fluktuationer med periodicitet om 10-20 minuter, som hade samband med variationer i kvinnornas mera ihållande molvärk. Dessa fluktuationer skulle kunna förklaras av förändringar i VP-insöndringen eftersom VP liksom andra hypotalamiska hormon kan frisättas pulsativt (Weitzman, Fisher, DiStefano och Bennett, 1977). Prostaglandiner (PG), som tillmäts en betydande roll vid dysmenorré (se Ylikorkala och Dawood, 1978), kan inte gärna förklara dessa blodflödesfluktuationer. Det är inte troligt att PG, som framför allt bildas i endometriet, frisätts pulsativt från detta, åtminstone inte med ovannämnda periodicitet. I tre delarbeten utförda på kvinnor med dysmenorré studerades därför VP-nivån i plasma. VP-koncentrationerna hos kvinnor med dysmenorré jämfördes med nivåerna hos normala kontrollpersoner. Dessutom studerades hur behandling med PG-synteshämmare inverkade på VP-nivån. I ett av arbetena bestämdes VP- och PG-metaboliter i en serie blodprover vid premenstruell smärta och vid dysmenorré. Avsikten med detta var att klargöra dessa substansers relativa betydelse och inbördes samband vid dessa tillstånd. I ett experimentellt arbete med intrauterin tryckmätning studerades också interaktionen och effektmekanismerna för dessa substanser.

Det var också av intresse att klarlägga hur vasopressin normalt insöndras under menstruationscykelns olika delar och att studera hur ovarialhormonerna inverkar på VP-frisättningen.

Sammanfattningsvis var syftet med undersökningarna

1. att studera vasopressinnivån hos kvinnor med och utan primär dysmenorré (I)
2. att studera effekten av smärtlindring på vasopressinnivån hos kvinnor med primär dysmenorré (II)
3. att undersöka insöndringen av vasopressin under olika faser av menstruationscykeln (II)
4. att klarlägga ovarialhormonernas inverkan på vasopressininsöndringen (IV)
5. att studera effektmekanismer och interaktion av vasopressin och prostaglandin vid stimulering av uterus (V)
6. att studera sambandet mellan vasopressin och prostaglandin och dessa substansers etiologiska betydelse hos kvinnor med premenstruell smärta och hos kvinnor med primär dysmenorré (VI)

## MATERIAL OCH METODER

### Försökspersoner

Antalet kvinnor som deltog i detta avhandlingsarbete var 76 stycken. Uppdelade på de sex undersökningarna var dock antalet medverkande relativt begränsat (5-20). Orsaken till detta var att flera undersökningar var relativt omfattande med upprepade blodprovstagningar (II, IV och VI). I en undersökning (V) provocerades dessutom dysmenorréliknande smärtor genom infusion av VP eller  $\text{PGF}_{2\alpha}$ . I dysmenorreundersökningarna (I, II och VI) var flertalet av de medverkande kvinnorna förhållandevis unga.

De flesta kvinnorna kontaktades och inbjöds att deltaga i samband med besök på kvinnoklinikens mottagning, studentläkarmottagningen eller tonårsmottagningen i Lund. Flera var medarbetare på kvinnokliniken i Lund. Samtliga kvinnor var i förväg muntligt och skriftligt informerade om hur den aktuella undersökningen skulle gå till. Ingen av kvinnorna deltog i mer än en undersökning. Samtliga kvinnor var gynekologiskt sett friska och ingen använde spiral eller P-piller. Ålder och paritet varierade beroende på undersökning. Detaljer om försökspersonerna framgår av de olika delarbetena.

### Undersökningarnas uppläggning

I delarbete I undersöktes VP-koncentrationen i plasma hos sex kvinnor med dysmenorré och hos fem motsvarande kontrollpersoner utan symptom. Från båda grupperna togs två blodprov med 30 minuters intervall dels på första blödningsdagen och dels på cykeldag 5-7.

För att studera inverkan av själva smärtan på VP-insöndringen togs i arbete II blodprov första mensdagen från en ny grupp om nio kvinnor med primär dysmenorré både före och efter smärtlindring. Som smärtstillande medel användes PG-synteshämmaren naproxen (Naprosyn<sup>R</sup>, Astra-Syntex AB) som gavs per os i en dos av 500 mg. Även här ingick en kontrollgrupp om sammanlagt åtta kvinnor utan symptom.

I arbete III studerades VP-insöndringen under menstruationscykeln genom blodprovstagning varannan till var tredje dag från åtta symptomfria kvinnor med regelbundna menstruationer.

I arbete IV undersöktes ovarialhormonernas inverkan på VP-insöndringen. Detta utfördes med hjälp av en grupp om sex friska postmenopausala kvinnor som behandlades med östradiolvalerianat (Progynon<sup>R</sup>, Schering Nordiska AB) 2 mg x 1 och med medroxyprogesteronacetat (Gestapuran<sup>R</sup>, Lövens

Läkemedel AB) 10 mg x 1 per os. Effekten av tillförsel av hormonerna var för sig och i kombination studerades och upprepade blodprover togs under en period om sammanlagt sex veckor från dessa kvinnor.

I arbete V mättes uterusaktiviteten med intrauterin tryckmätning hos fem symptomfria kvinnor första blödningsdagen vid 2-3 menstruationer. Under det första försöket gavs enbart infusion av lysin-VP (Postacton<sup>R</sup>, Ferring AB), 0,08 µg/min och under det andra gavs samma infusion efter förbehandling med PG-synteshämmaren naproxen (Naprosyn<sup>R</sup>, Astra-Syntex AB), 500 mg per os. Under den tredje menstruationen i serien gavs till tre av kvinnorna infusion av PGF<sub>2α</sub> (Amoglandin<sup>R</sup>, Recip AB), 25 mg/min. Upprepade blodprover togs under de tre försöken för bestämning av plasmakoncentrationer av arginin- och lysin-VP samt två typer av PGF-metaboliter, 15-keto-13,14-dihydro-PGF<sub>2α</sub> och 11-ketotetranor PGF-metaboliter.

I delarbete VI undersöktes plasmakoncentrationerna av VP och de två ovannämnda PG-metaboliterna hos fem kvinnor med premenstruell underlivssmärta och hos fem kvinnor med primär dysmenorré. Två kontrollgrupper med fem kvinnor i vardera ingick också i undersökningen. För att studera ett eventuellt samband mellan plasmanivåer och variationer i smärtintensiteten togs prover med 30 minuters intervall under 3-4 timmars tid. Från kvinnorna med premenstruell smärta och från de motsvarande kontrollpersonerna togs blodprovsserien ca ett dygn före menstruationsstarten. Från kvinnorna med dysmenorré och från den andra kontrollgruppen togs motsvarande blodprovsserie med början 1-2 timmar efter det att menstruationen startat. I samtliga undersökningar följdes förutom PG- och VP-insöndringen även plasmanivåer av ovarialhormoner och tillförda steroider samt osmolalitet och serumkoncentrationer av natrium. Detaljer om dessa bestämningar framgår av de individuella delarbetena.

#### Blodprovstagning och registrering av symptom

I samtliga undersökningar (I-VI) ingick flera blodprovstagningar. Provtagningarna för VP-bestämning, sammanlagt 443 stycken, gjordes under så standardiserade former som möjligt framför allt med hänsyn till yttre faktorer som kan inverka på VP-insöndringen. Således utfördes provtagningarna på dagtid. Försökspersonerna fick äta och dricka normalt men måste avstå från rökning och intag av lugnande eller smärtstillande medel. För att reducera påverkan av fysisk aktivitet och psykisk stress fick patienterna vila ostörda i sittande eller liggande ställning under

10-30 minuter före varje provtagning. Med få undantag togs också samtliga blodprover av samma person.

Vid varje provtagningstillfälle i dysmenorréundersökningarna (I, II och VI) och i undersökningarna med VP- eller PG-stimulering av uterusaktiviteten (V) ombads kvinnorna gradera sitt onda i lätt (1), måttlig (2) eller svår (3) smärta. I sina ambitioner att lämna korrekta smärtuppgifter gjorde kvinnorna påfallande ofta mellangraderingar. "Knappt" eller "drygt" måttligt ont etc approximerades dock i försöksprotokollet som endast måttlig smärta. Vid enstaka tillfällen förekom en viss diskrepans mellan kvinnornas smärtuppgifter och det kliniska intrycket hos undersökaren. Det var dock alltid kvinnornas subjektiva smärtuppskattning som noterades vid provtagningstillfället ifråga.

VP liksom andra små peptidhormoner tenderar att vara instabila i blodplasma (Chard, 1976). Med anledning av detta togs alltid blodproverna i kyllda heparinrör, som sedan inom ett par minuter centrifugerades i kylrum (2-4 °C), varefter plasman omedelbart frystes ner till -20 °C. Av praktiska skäl kylcentrifugerades och frystes också de samtidigt tagna proverna för bestämning av övriga hormoner - östradiol, progesteron, medroxyprogesteron, prolaktin, FSH, LH och PGF-metaboliter.

### Hormonanalyser

VP-analyserna i samtliga undersökningar utfördes med en RIA-metod. Vid studiens början 1977 var denna metod för bestämning av VP-koncentrationen i plasma relativt nyutvecklad och endast uppsatt på ett fåtal platser i världen. Användandet av RIA-teknik (Yalow och Berson, 1960) för små peptidhormoner som VP har varit förknippad med flera svårigheter vilket försenat utvecklingen (Chard, 1973). Det största problemet har varit att framställa ett antiserum med tillräckligt hög affinitet till antigenet (Chard, 1973; Forsling, 1976b). Orsaken till detta har framförallt varit att denna peptid, med en molekylvikt på endast omkring 1000, har dåliga antigena egenskaper men också att människans arginin-VP är det naturliga hormonet hos de flesta däggdjur. Andra problem vid VP-bestämningar har varit den mycket låga nivån i cirkulationen, som kräver ett potent antiserum, samt att plasman innehåller substanser som ospecifikt hämmar antigen-antikroppsreaktionen för arginin-VP (Forsling, 1976b; Edwards, 1977). Detta har nödvändiggjort utvecklingen av olika metoder att först extrahera VP från plasma (Chard, 1973; Chard och Forsling 1976;

Edwards, 1977). Därmed koncentreras också hormonet till mindre volymer, vilket ökar analysmetodens känslighet.

I denna avhandling användes genomgående bentonite som extraktionsmedel (enligt Skowsky, Rosenbloom och Fisher, 1974). Koncentrationerna av arginin-VP analyserades sedan med en RIA-metod enligt Chard och Forsling (1976). Analysen av lysin-VP utfördes med ett annat antiserum, vars korsreaktion med arginin-VP är cirka 5%. I övrigt var bestämningsmetoderna för lysin- och arginin-VP desamma.

Referenslösningen för arginin-VP ändrades efter det första delarbetet och i samtliga av de efterföljande undersökningarna har the First International Standard of arginin-VP (77-501) använts. Metodens känslighet är 0,05 uU/ml vid användande av 2-3 ml plasma och "intra"- och "interassay" variationen är 8,5 respektive 12,5% (personligt meddelande från Forsling).

PG metaboliten 15-keto-13,14-dihydro-PGF<sub>2α</sub> bestämdes med RIA-metod enligt Granström och Kindahl (1976a och 1982a). I RIA-metoden för 11-ketotetranor PGF metaboliterna användes ett antiserum som utvecklats mot 5α,7α-dihydroxy-11-keto-tetranor-prostane-1,16-dioic syra (Granström och Kindahl, 1976b). Metoden har sedan modifierats för plasmaanalys (Granström och Kindahl, 1982b och c). Som framgår av figur 2 har dessa PGF-metaboliter något olika kinetiska egenskaper. 15-ketodihydro-PGF<sub>2α</sub> bildas omedelbart från modersubstanser, medan 11-ketotetranor-metaboliterna är mera degraderade och i allmänhet inte når sitt maxvärde i cirkulationen förrän efter 15-30 minuter. Dessutom har tetranor-metaboliterna en längre halveringstid och finns därför kvar längre i cirkulationen.

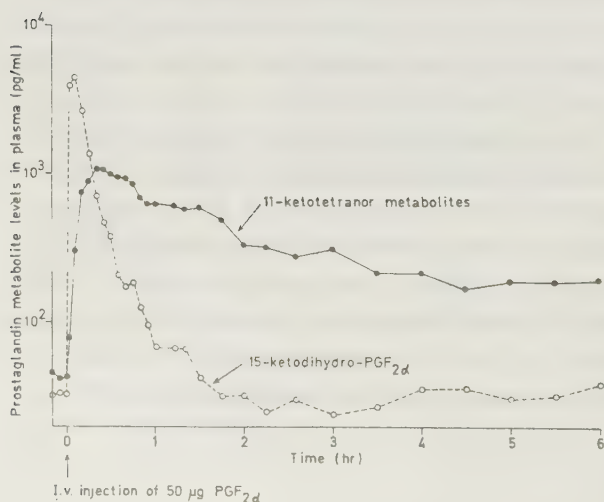


Fig 2. Plasmakoncentrationer av 15-ketodihydro-PGF<sub>2α</sub> och 11-ketotetranor PGF-metaboliter efter intra-venös engångsdos av PGF<sub>2α</sub>.

Bilden från Granström och Kindahl, Methods Enzymol 1982.

17 $\beta$ -östradiol och progesteron bestämdes enligt Batra, Sjöberg och Thorbert (1978) och medroxyprogesteronacetat enligt Jeppsson och Johansson (1976). Prolaktin FSH och LH bestämdes enligt rutinmetoder på kliniskt kemiska centrallaboratoriet, lasarettet i Lund.

#### Registrering och kvantifiering av uterusaktiviteten

I undersökningen med intrauterina tryckmätningar användes en micro-transducer kateter (PC-350, Millar Instruments, Houston, Texas). Detaljerna för denna mätteknik har tidigare publicerats (Åkerlund, Bengtsson och Ulmsten, 1978). Katetern infördes under aseptiska förhållanden genom cervixkanalen och placerades med sin spets nära fundus uteri. Eftersom samtliga kvinnor i registreringsförsöken (V) var omfödelskor var införandet lätt och inte vid något tillfälle förknippat med subjektiva obehag. Katetern stabiliserades sedan i önskat läge med hjälp av gaskompresser i vagina. Före och efter varje registrering kalibrerades katetern mot en kvicksilvermanometer.

Uterusaktiviteten kvantifierades genom en planimetrisk analys av registreringskurvorna och som måtenhet användes "total pressure area" under 10 minuter (Miller, Yeh, Schifrin, Paul och Hon, 1975). Genom att hela ytan under tryckkurvan således beräknades inkluderades både tonus och enskilda kontraktioner i en enda parameter.

#### Statistiska metoder

Statistisk jämförelse av resultaten från blodprovstagningarna och från uterusregistreringarna utfördes med Student's t-test när dessa var normalfördelade (arbete II-V och delar av arbete VI). I övriga fall (arbete I och resten av arbete VI) användes icke numeriskt test (Wilcoxon's test).

Vasopressinkoncentrationen i plasma hos kvinnor med och utan primär dysmenorré

Den första jämförande undersökningen (I) visade att VP-nivån i plasma första menstruationsdagen hos kvinnorna med dysmenorré var nästan dubbelt så hög som hos kvinnorna med smärtfria menstruationer. I den förra gruppen var VP-koncentrationen  $0,38 \pm 0,05$  (SEM)  $\mu\text{U/ml}$  i det första och  $0,42 \pm 0,05$   $\mu\text{U/ml}$  i det andra provet som togs 30 minuter senare. I kontrollgruppen var motsvarande koncentrationer  $0,20 \pm 0,08$  och  $0,21 \pm 0,05$   $\mu\text{U/ml}$ . Det bör dock observeras att en av de symptomfria kvinnorna hade en förhållandevis hög VP-koncentration på 0,50 och 0,40  $\mu\text{U/ml}$  i de två proverna. Sammantaget var dock skillnaden i VP-koncentration mellan grupperna statistiskt signifikant ( $p < 0,05$ ). På samtliga kvinnor i denna undersökning togs också prover någon av cykeldagarna 5-7. Den genomsnittliga VP-nivån hos kvinnorna i dysmenorrégruppen var då  $0,60 \pm 0,15$   $\mu\text{U/ml}$  och i kontrollgruppen  $0,68 \pm 0,12$   $\mu\text{U/ml}$ . I kontrollgruppen var detta signifikant högre än VP-koncentrationen första mensdagen ( $p < 0,05$ ). Vid samma jämförelse hos kvinnorna med dysmenorré framkom inga signifikanta skillnader, sannolikt beroende på att koncentrationen redan var förhöjd första menstruationsdagen.

I arbete I ingick ursprungligen 10 kvinnor med dysmenorré och 10 kontrollpersoner. Bortfallet i denna första undersökning var således stort, fyra kvinnor i dysmenorrégruppen och fem kvinnor i gruppen med smärtfria menstruationer. Orsaken till detta var dels uppläggningsen av undersökningen med bestämda provtagningstider oberoende av dysmenorrékvinnornas aktuella smärttillstånd och dels en viss orutin vid urvalet av försökspersoner. Ur dysmenorrégruppen uteslöts tre kvinnor som endast hade obetydlig smärta vid provtagningstillfällena och ur den symptomfria gruppen tre kvinnor som hade låga progesteronvärden i plasma omkring cykeldag 21 i föregående cykel som tecken på anovulation. Övriga tre kvinnor som uteslöts hade lätt förhöjda serumnivåer av natrium eller osmolalitet vid ett eller flera provtagningstillfällen. Trots dessa begränsningar kan redan från resultaten i arbete I två preliminära slutsatser dras: VP-insöndringen är i allmänhet förhöjd hos kvinnor med primär dysmenorré och VP-insöndringen kan variera med de hormonella förändringarna under menstruationscykeln.

## Vasopressin vid primär dysmenorré före och efter hämning av prostaglandinsyntesen

Resultaten i arbete II bekräftar att kvinnor med dysmenorré oftast har en klart förhöjd VP-insöndring. Alla de deltagande kvinnorna med dysmenorré i denna studie hade kraftigt ont vid provtagningen och VP-koncentrationen hos dessa var i genomsnitt  $1,71 \pm 0,43$  (SEM)  $\mu\text{U/ml}$  medan den hos kontrollpersonerna var  $0,51 \pm 0,15$   $\mu\text{U/ml}$ . Alla värden i dysmenorrégruppen var högre än i kontrollgruppen och skillnaden klart statistiskt signifikant ( $p < 0,005$ ). Denna skillnad mellan grupperna kvarstod även efter att kvinnorna med dysmenorré behandlats med PG-synteshämmare. Vid provtagning 60-90 minuter efter intag av naproxen, när smärtorna var obetydliga, var VP-koncentrationen i genomsnitt  $1,89 \pm 0,46$   $\mu\text{U/ml}$ .

Inga skillnader förelåg mellan grupperna i koncentration av progesteron och östradiol i prover tagna i mitten av lutealfasen i närmast föregående cykel. Inga skillnader förelåg heller cykeldag 1 i dessa hormoner eller i natriumkoncentration och osmolalitet.

VP-koncentrationen både i dysmenorré- och kontrollgruppen i arbete II var högre än i motsvarande grupper i arbete I. Denna skillnad orsakades sannolikt huvudsakligen av att standarden för VP-analyserna förändrades mellan undersökningarna. En "interassay" variation kan också ha bidragit.

En annan påtaglig skillnad mellan resultaten i arbete I och II var att VP-nivån i det förra arbetet var dubbelt så hög hos kvinnorna med mensont som hos kontrollerna medan den i det senare arbetet var 3-4 gånger högre. Denna skillnad kan sannolikt förklaras av patienturvalet, eftersom kvinnorna vid dysmenorré i arbete II i allmänhet hade mera uttalade symptom än i arbete I.

VP-nivån hos kvinnorna med dysmenorré förblev hög även efter smärtlindring med naproxen (II). Detta talar för att den högre VP-koncentrationen hos kvinnor med mensont är primär och inte utlöst av själva smärtan. Att smärtlindring kunde åstadkommas med PG-synteshämmare trots att VP-nivån förblev oförändrad antyder att en av VPs effektmekanismer vid dysmenorre kan vara att öka PG-syntesen i endometriet.

### Vasopressinkoncentrationen i plasma under menstruationscykeln

En cyklisk variation i insöndringen av VP förelåg hos kvinnorna i denna studie (III) med de lägsta koncentrationerna vid menstruationens början och de högsta vid tidpunkten för ovulationen (Fig 3).

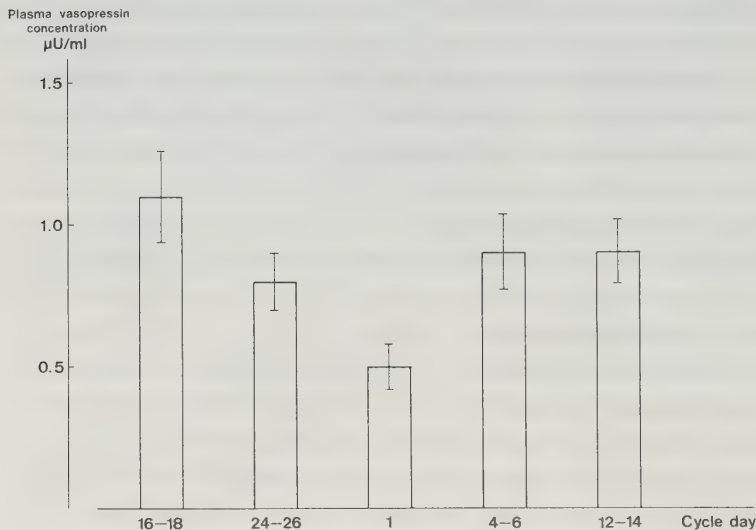


Fig 3. VP-koncentration i plasma vid olika tidpunkter i menstruationscykeln hos åtta symptomfria kvinnor med regelbundna menstruationer.

På cykeldag 1 var VP-koncentrationen i genomsnitt  $0,5 \pm 0,1$  (SEM)  $\mu\text{U/ml}$  och på cykeldag 16-18  $1,1 \pm 0,2 \mu\text{U/ml}$ . Dessa värden var signifikant skilda ( $p < 0,02$ ). Nivåerna på dag 4-6, 12-14 och 24-26 (Fig 3) var också signifikant högre än VP-koncentrationen på dag 1 ( $p < 0,05$ ,  $p < 0,025$  respektive  $p < 0,05$ ). Plasmakoncentrationen av progesteron och östradiol visade normalvärden och tecken på ovulation hos alla kvinnor och ingen hade tecken på störningar i vätske- eller elektrolytbalansen. Inga signifikanta förändringar i plasma- eller urinosmolalitet förelåg under menstruationscykeln. VP-nivån under menscykeln var inte korrelerad till plasmanivåerna av östradiol eller progesteron och inte heller till

östradiol/progesteron kvoten. Under follikelfasen med enbart östrogeninsöndring steg dock VP-nivån medan den successivt sjönk under lutealfasen med kombinerad östrogen- och progesteroninsöndring.

Undersökningen visade således en statistiskt säkerställd variation i VP-nivån under de normala förändringarna i insöndringen av ovarialhormoner under menstruationscykeln.

#### Ovarialhormonernas inverkan på vasopressininsöndringen

Effekten av östrogen- och gestagentillförsel var för sig och i kombination på VP-nivåerna hos de sex postmenopausala kvinnorna i arbete IV framgår av figur 1 i delarbetet. Efter fem dagars behandling med östradiolvalerianat hade VP-nivån i plasma stigit från i medeltal  $0,5 \pm 0,1$  (SEM)  $\mu\text{U/ml}$  till  $1,4 \pm 0,3 \mu\text{U/ml}$ , d v s tre gånger det ursprungliga värdet ( $p < 0,0125$ ). Under samma tid hade östradiolkoncentrationen i plasma stigit från  $72 \pm 12 \text{ pmol}$  till  $313 \pm 61 \text{ pmol/l}$ . Behandling med enbart medroxyprogesteron, som gav en genomsnittlig plasmakoncentration på som högst  $4,0 \pm 0,9 \text{ mmol/l}$ , hade ingen inverkan på VP-nivån.

När kvinnorna först behandlades med östradiolvalerianat och sedan med östradiolvalerianat och medroxyprogesteron i kombination orsakade däremot gestagenet en signifikant sänkning av VP-koncentrationen. Efter fem dagars återupprepad östrogenbehandling var VP-nivån  $1,2 \pm 0,3 \mu\text{U/ml}$  och efter ytterligare fem dagars behandling i kombination med gestagen  $0,4 \pm 0,1 \mu\text{U/ml}$ . Hos tre kvinnor som hade en kvarstående VP-förhöjning nio dagar efter den första östrogenbehandlingen sänktes också VP-nivån när gestagenbehandlingens påbörjades.

Resultaten bekräftade således att ovarialhormonerna påverkar VP-insöndringen. Östradiol i fysiologiska koncentrationer stimulerar åtminstone kortsiktigt till en ökad VP-frisättning medan progesteron, eller i varje fall medroxyprogesteron, motverkar den östrogeninducerade VP-ökningen.

#### Uterusaktivitet och plasmakoncentration av PGF-metaboliter vid vasopressinstimulering

Effekterna av lysin-VP-infusion enbart och efter förbehandling med naproxen är summerad för hela försöksserien i figur 1 och 2 i delarbete V och typiska registreringar hos en av kvinnorna återges i figur 4 i avhandlingens sammanfattning.

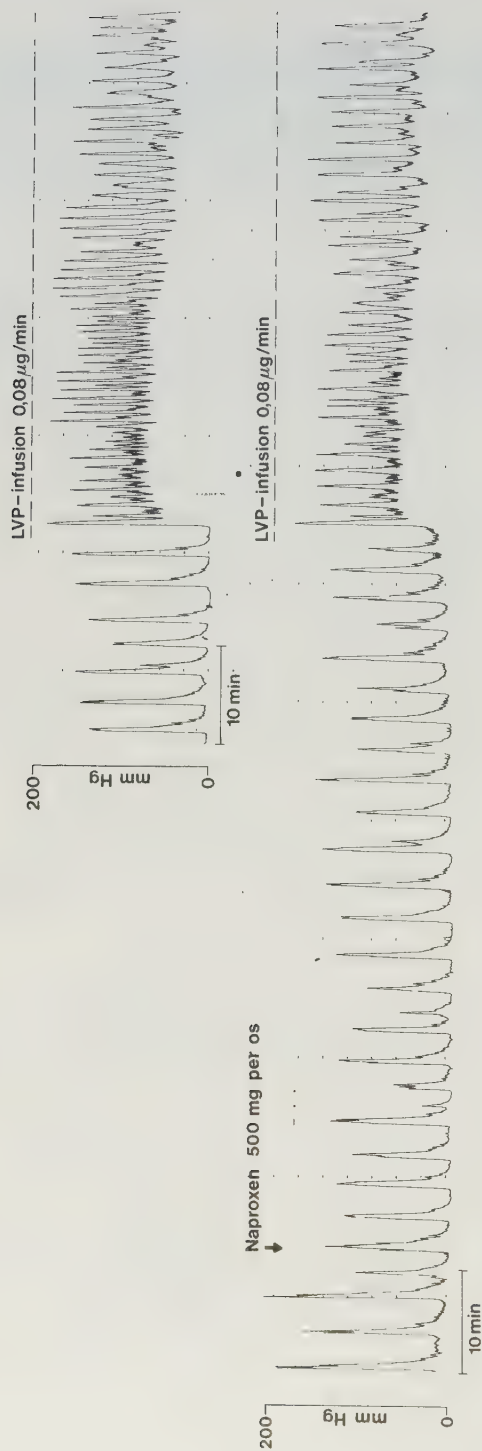


Fig 4. Effekt på uterusaktiviteten av lysin(L)-VP-infusion enbart och efter förbehandling med en PG-synteshämmare. Registreringarna av intrauterint tryck utfördes på första cykeldagen i två på varandra följande menstruationer hos samma försöksperson.

Under båda lysin-VP-infusionerna erhöjls hos de fem kvinnorna liknande plasmanivåer av VP. Således var t ex plasmanivån efter 70 minuters infusion vid den första försöksserien i genomsnitt  $36,4 \pm 8,4$  (SEM)  $\mu\text{U/ml}$  och vid den andra  $33,8 \pm 9,0$   $\mu\text{U/ml}$ . Under de två försöksserierna erhöjls också praktiskt taget samma stimulering av uterusaktiviteten. Inom 1 - 2 minuter efter start av VP-infusionen ökade uterusaktiviteten med framför allt kontraktioner av högre frekvens och en stegrad basaltonus. Efter ca 10 minuter var aktiviteten maximal men avtog sedan och stabiliserades på en något lägre nivå. Således var "total pressure area" efter t ex 70 minuters infusion  $68,1 \pm 4,9$  mmHg x 10 min under den första försöksserien och  $63,3 \pm 5,6$  mmHg x 10 min under den andra.

Alla de medverkande kvinnorna upplevde dysmenorréliknande symptom under de två infusionerna. De graderade genomgående dessa som måttliga under det första och lätta under det andra försöket.

Effekten av VP-infusionen på PG-syntesen skiljde sig klart mellan försöken med och utan förbehandling med naproxen. Under den första försöks-serien var medelvärde för plasmakoncentrationen av 15-ketodihydro-PGF<sub>2α</sub> före infusionen  $260 \pm 15$  (SEM) pmol/l och steg till maximalt  $468 \pm 46$  pmol/l efter 70 minuter. Motsvarande värden för 11-ketotetranor-metaboliterna var  $319 \pm 36$  pmol/l respektive  $589 \pm 46$  pmol/l. Under den andra försöksserien sjönk plasmanivån av 15-ketodihydro-PGF<sub>2α</sub> redan under de 70 minuterna efter naproxenbehandlingen från  $280 \pm 30$  pmol/l till  $190 \pm 27$  pmol/l. Plasmanivån förblev sedan låg trots den efter-följande LVP-infusionen. Efter 70 minuters infusion var den  $202 \pm 26$  pmol/l. Effekten på plasmanivån av tetranormetaboliter var likartad. Vid ovanstående tidpunkter var således koncentrationerna  $293 \pm 26$ ,  $259 \pm 35$  respektive  $251 \pm 53$  pmol/l.

Försöken visar att VP kan stimulera till ökad PGF-syntes men också att denna mekanism inte är nödvändig för VPs effekt på uterusaktiviteten. Stimulering sågs redan efter ca 1-2 minuters infusion när plasmakoncentra-tionen av VP rimligtvis ännu inte nått suprafysiologiska nivåer.

#### Uterusaktivitet och plasmakoncentration av arginin-vasopressin vid PGF<sub>2α</sub>-stimulering

Infusion med PGF<sub>2α</sub> orsakade en successivt ökad uterusaktivitet hos de tre deltagande kvinnorna (Figur 3 arbete V). En typisk registrering vid PG-infusion från samma försöksperson som i figur 2 finns avbildad i

figur 5 i avhandlingens sammanfattning.  $\text{PGF}_{2\alpha}$ -infusion liksom lysin-VP i de tidigare försöken, ökade främst kontraktionernas frekvens och basaltonus. Efter 70 minuters infusion av  $\text{PGF}_{2\alpha}$  var medelvärdet för total pressure area  $67,4 \pm 13,2$  (SEM) mmHg x 10 min, d v s nästan detsamma som vid infusionerna med lysin-VP. De tre kvinnorna hade då också lätta till måttliga dysmenorréliknande besvär inkluderande lätt illamående.

Plasmakoncentrationen av arginin-VP var omedelbart före infusionsstarten  $0,5 \pm 0,1$   $\mu\text{U/ml}$  och förblev låg under hela perioden av PG-tillförsel. Således uppgick VP-koncentrationen efter 70 min till  $0,7 \pm 0,1$   $\mu\text{U/ml}$ . I motsatts till försöken med VP-infusion som ökade PG-syntesen hade således PG-infusion ingen säker effekt på VP-insöndringen.

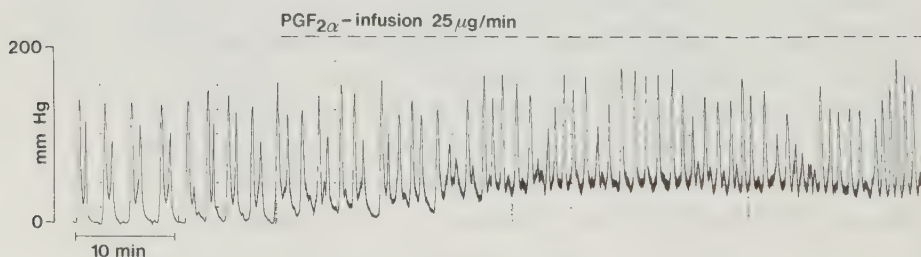


Fig 5. Effekt på uterusaktiviteten av  $\text{PGF}_{2\alpha}$  första menstruationsdagen hos samma försöksperson som i figur 4.

#### Plasmakoncentrationer av vasopressin och PGF-metaboliter och deras relation till symptomens svårighetsgrad vid premenstruell smärta och primär dysmenorré

Kvinnorna med ont före menstruationsdebuten hade högre och mer fluktuerande VP-nivåer än kvinnorna i motsvarande kontrollgrupp (Figur 1, delarbete VI). Sammanlagt togs premenstruellt 38 prover från de fem

kvinnorna i smärtgruppen och 36 prover från de fem kvinnorna i kontrollgruppen. Medelvärdet för VP-koncentrationen var  $1,4 \pm 0,1$  (SEM)  $\mu\text{U/ml}$  i smärtgruppen och  $0,4 \pm 0,1$   $\mu\text{U/ml}$  i kontrollgruppen, en klart statistiskt signifikant skillnad ( $p < 0,001$ ). Inga skillnader sågs mellan grupperna premenstruellt i plasmanivåerna av PGF-metaboliter. Således var koncentrationen av 15-ketodihydro-PGF $_{2\alpha}$  i den förra gruppen  $245 \pm 16$  pmol/l och i kontrollgruppen  $239 \pm 12$  pmol/l. Motsvarande värden för tetranor-metaboliterna var  $302 \pm 15$  respektive  $295 \pm 12$  pmol/l.

I proverna från kvinnorna med dysmenorré var plasmanivåerna av både VP och PGF-metaboliter kraftigt förhöjda och också kraftigt fluktuerande i jämförelse med nivåerna hos kvinnorna i kontrollgruppen med smärtfria menstruationer. Medelvärdet för VP-koncentrationen i 39 prover från kvinnorna med dysmenorré var  $2,0 \pm 0,3$   $\mu\text{U/ml}$  och i samma antal prover från kontrollpersonerna  $0,5 \pm 0,2$   $\mu\text{U/ml}$ , en signifikant skillnad ( $p < 0,001$ ). Motsvarande medelvärden för 15-ketodihydro-PGF $_{2\alpha}$  var  $444 \pm 36$  respektive  $263 \pm 18$  pmol/l ( $p < 0,01$ ) och för tetranormetaboliterna  $525 \pm 25$  respektive  $315 \pm 25$  pmol/l ( $p < 0,001$ ).

För att undersöka om det förelåg ett samband mellan graden av smärta och plasmanivåerna av VP och PGF-metaboliterna relaterades resultaten i prov från olika individer till smärtan vid provtagningstillfället (Tabell II, delarbete VI). Premenstruellt var då VP-nivån signifikant högre ( $p < 0,05$ ) i blodprov tagna vid måttlig än vid lätt smärta. Under menstruation då symptomen var mer uttalade och mer varierande var både VP- och PG-nivåerna signifikant högre ( $p < 0,05$ ) vid svår än vid lätt smärta. Med hänsyn till den senare bildningen och den längre halveringstiden jämfördes koncentrationen av tetranor-metaboliterna med symptomens svårighetsgrad 30 minuter tidigare.

Beträffande ovarialhormonerna framkom som enda signifikant skillnad mellan smärtgrupp och motsvarande kontrollgrupp en förhöjd östradiolnivå ( $p < 0,05$ ) hos kvinnorna med premenstruell smärta (Tabell III, delarbete VI).

Sammanfattningsvis visade alltså denna undersökning att vid premenstruell smärta är VP-nivån förhöjd men inte nivå av PGF-metaboliterna. Den signifikanta förhöjningen av östradiol kan möjligen ha bidragit till den högre VP-nivån (se delarbete IV). Vid dysmenorré förelåg ökade nivåer av både VP och PGF-metaboliter och tecken på ett samband mellan nivåerna av dessa substanser och symptomens svårighetsgrad.

Insöndring av vasopressin

Smärta och stress har sedan länge ansetts öka VP-insöndringen (Rydin och Verney, 1938; O'Connor och Quart, 1946; Harris, 1955). Mekanismen bakom denna påverkan är dock fortfarande inte helt klarlagd. Smärta och stress påverkar det autonoma nervsystemet och ger ökad sympaticustonus och ökad insöndring av catecholaminer (Schrier och Berl, 1975). Det parasympatiska nervsystemet verkar hämmande på VP-frisättningen och en ökad sympaticustonus i samband med smärta och stress skulle reflexmässigt kunna minska den parasympatiska hämningen. Därmed skulle dessa yttre faktorer kunna öka VP-insöndringen (Schrier och Berl, 1975; Schrier, Berl och Andersson, 1979).

I en senare stresstudie fann emellertid Brennan, Shelton och Robertson (1975) inte någon påverkan av bl a smärtstimuli på VP-nivån i plasma hos råttor, trots att dessa manipulationer uppenbarligen innebar stress för försöksdjuren eftersom de provocerade en corticosteronökning. Författarnas slutsats blev att smärta och stress sannolikt inte är några betydelsefulla stimuli för VP-insöndringen. Edwards (1977) har också påpekat att man vid många av de tidigare experiment som använts för att demonstrera ett samband mellan stress och VP-frisättning varit hänvisade till mycket indirekta metoder för bedömning av VP-nivån. Även Robertson (1977) har ifrågasatt resultaten i de tidiga smärtstudierna och bl a påpekat att VP-förhöjningen kan ha varit sekundär till cirkulatoriska förändringar hos försöksdjuren. Inte heller i en studie av neurologpatienter med kroniska smärttillstånd kunde man konstatera någon förhöjd VP-nivå, vare sig i plasma eller i liquor (Sundquist et al, 1983).

Mot bakgrund av ovanstående var det således oklart om VP-förhöjningen vid dysmenorré som framkom i delarbete I var primär eller sekundär till smärtan. Resultaten i arbete II med kvarstående VP-förhöjning även efter smärtlindring talar dock för att VP-förhöjningen vid dysmenorré inte i någon större utsträckning är ett sekundärt fenomen. I samma riktning talar resultaten vid PG-tillförsel i arbete V. När ökad uterusaktivitet och dysmenorréliknande symptom provocerades med  $\text{PGF}_{2\alpha}$ -infusion förändrades inte VP-nivån.

Förändringar i elektrolyt- och vätskebalansen har en oomstridd inverkan på VP-insöndringen. Med hänsyn till detta togs i samtliga delarbeten prover för bestämning av serumosmolalitet och i några av delarbetena (I, III) också för bestämning av natriumkoncentration och urinosmolalitet. Dessa parametrar låg genomgående inom normalgränserna trots de varierande VP-nivåerna. Detta är i överensstämmelse med resultat i studier av Weitzman et al (1977) och Forsling och Ullman (1974), som fann att korttidsvariation av VP i plasma inte nämnvärt påverkar serumosmolaliteten, urinproduktionen eller förhållandet urin-/plasmaosmolalitet.

Ovarialhormonerna kan också tänkas påverka VP-insöndringen. En välkänd klinisk iakttagelse är att östrogener kan framkalla vätskeretention. I försök med råttor har konstaterats att östrogenbehandling ökar VP-koncentrationen i plasma och att VP-nivån korrelerar väl mot de förväntade östrogennivåerna under östruscykeln (Skowsky, Swan, Smith, 1979). Den östrogenbetingade vätskeretentionen skulle således kunna vara medierad via ökad VP-insöndring med åtföljande antidiures.

Redan i delarbete I av avhandlingen framkom misstanke om att VP-nivån kan variera med förändringarna i östrogen- och progesteronnivå under menscykeln. VP-koncentrationen hos kontrollpersonerna var signifikant högre på cykeldag 5-7 än på cykeldag 1. Vid den senare mer systematiska studien av kvinnor under en normal menscykel bekräftades att VP-nivån varierar på ett typiskt sätt under denna (III). VP-koncentrationen steg således gradvis under proliferationsfasen till en högsta nivå vid tidpunkten för ovulation. Efter ovulationen när kvinnorna producerade både östrogen och progesteron blev resultatet i stället en sänkning, och nivån var som lägst vid menstruationens början. VP-insöndringen under menscykeln visar således ett omvänt mönster mot uteri känslighet för VP, som är lägst vid tidpunkten för ovulationen och högst vid menstruationens början (Coutinho och Lopez, 1968; Bengtsson, 1970).

I arbete IV påvisades mer direkt att östrogen stimulerar VP-insöndringen åtminstone i den behandlingsmodell som användes. Behandling med gestagen hade ingen egen effekt på VP-nivån men motverkade klart den stimulerande effekten av östrogen. Mot bakgrund av dessa resultat var det ett intressant fynd i arbete VI att östrogennivån hos kvinnorna med premenstruellt ont var signifikant högre än hos kvinnorna i en symptomfri kontrollgrupp. I smärtgruppen förelåg också en VP-förhöjning, och det är inte otänkbart att östrogenstegringen kan ha bidragit till denna. Hos kvinnor i 35-40 års

Åldern är det inte ovanligt med sviktande corpus luteum-funktion med åtföljande premenstruella symptom inkluderande vätskeretention och underlivssmärter. En relativ östrogenövervikt hos dessa kvinnor kan möjligen via ökad VP-insöndring bidra till symptomens uppkomst. Det kan därför vara värdefullt att närmare studera VP hos sådana kvinnor.

Vid primär dysmenorré kan en hormonell obalans med relativ östrogenövervikt också möjligen bidra till den ökade VP-insöndringen. Ylikorkala, Puolakka och Kauppila (1979) fann i en studie av kvinnor med dysmenorré att östrogennivån var förhöjd i ett enstaka prov taget mitt i lutealfasen. Även i delarbete II i denna avhandlingen var östradiolnivån i mitten av lutealfasen hos kvinnorna med dysmenorré högre än hos kvinnorna i kontrollgruppen. Skillnaden var dock inte statistiskt signifikant. För att närmare kunna avgöra ovarialhormonernas betydelse för den ökade VP-insöndringen vid primär dysmenorré fordras mer omfattande undersökningar med täta blodprovstagningar för hormonbestämning under hela menstruationscykeln.

#### Vasopressins effekter på uterus

Som beskrivits i inledningen av denna sammanfattning har VP kraftiga effekter på myometriet hos icke gravida kvinnor framförallt vid menstruationsdebuten. Av arbete V framgår att infusion med lysin-VP i mycket låg dos (0,08 µg/min) orsakar en uterusaktivitet liknande den hyperaktivitet som kan ses vid kraftig dysmenorré hos unga kvinnor (Åkerlund et al, 1976). Trots den låga VP-dos som användes vid infusionerna blev plasmakoncentrationerna av lysin-VP efter 10, 70 och 100 minuter relativt höga. För att försöka klarlägga den plasmanivå av VP som erfordras för uterusstimulering togs i en tidigare registreringsstudie med sju friska kvinnor (opublicerad) blodprover redan 2-3 minuter efter start av VP-infusion i samma dos. Själva proceduren med blodprovstagningen tog ca en halv minut. Prover togs också omedelbart före infusionen. Resultaten i samtliga försök framgår av tabell I och av registreringarna i figur 6 i avhandlingens sammanfattning.

Tabell I. Plasmakoncentration av arginin(A)-VP, lysin(L)-VP, 15-ketodihydro-PGF<sub>2α</sub> och 11-ketotetranor PGF-metaboliter hos sju friska försökspersoner omedelbart före (0) och 2-3 minuter efter start av infusion med LVP (0,08 µg/min).

| Försöks-<br>person | AVP   |     | 15-ketodihydro-PGF <sub>2α</sub> |     | 11-ketotetranor PGF |     |
|--------------------|-------|-----|----------------------------------|-----|---------------------|-----|
|                    | µU/ml |     | pmol/l                           |     | pmol/l              |     |
|                    | 0     | 2-3 | 0                                | 2-3 | 0                   | 2-3 |
| A                  | 0,6   | 3,9 | 247                              | 301 | 298                 | 321 |
| B                  | 0,3   | 2,6 | 222                              | 236 | 248                 | 237 |
| C                  | 0,5   | 4,0 | 271                              | 297 | 339                 | 358 |
| D                  | 0,6   | 4,7 | 278                              | 321 | 361                 | 356 |
| E                  | 0,8   | 4,1 | 217                              | 285 | 236                 | 233 |
| F                  | 0,4   | 3,4 | 253                              | 265 | 279                 | 301 |
| G                  | 1,0   | 6,2 | 298                              | 348 | 342                 | 354 |
| Medelvärde         | 0,6   | 4,1 | 255                              | 293 | 300                 | 309 |
| SEM                | 0,1   | 0,4 | 11                               | 14  | 18                  | 21  |

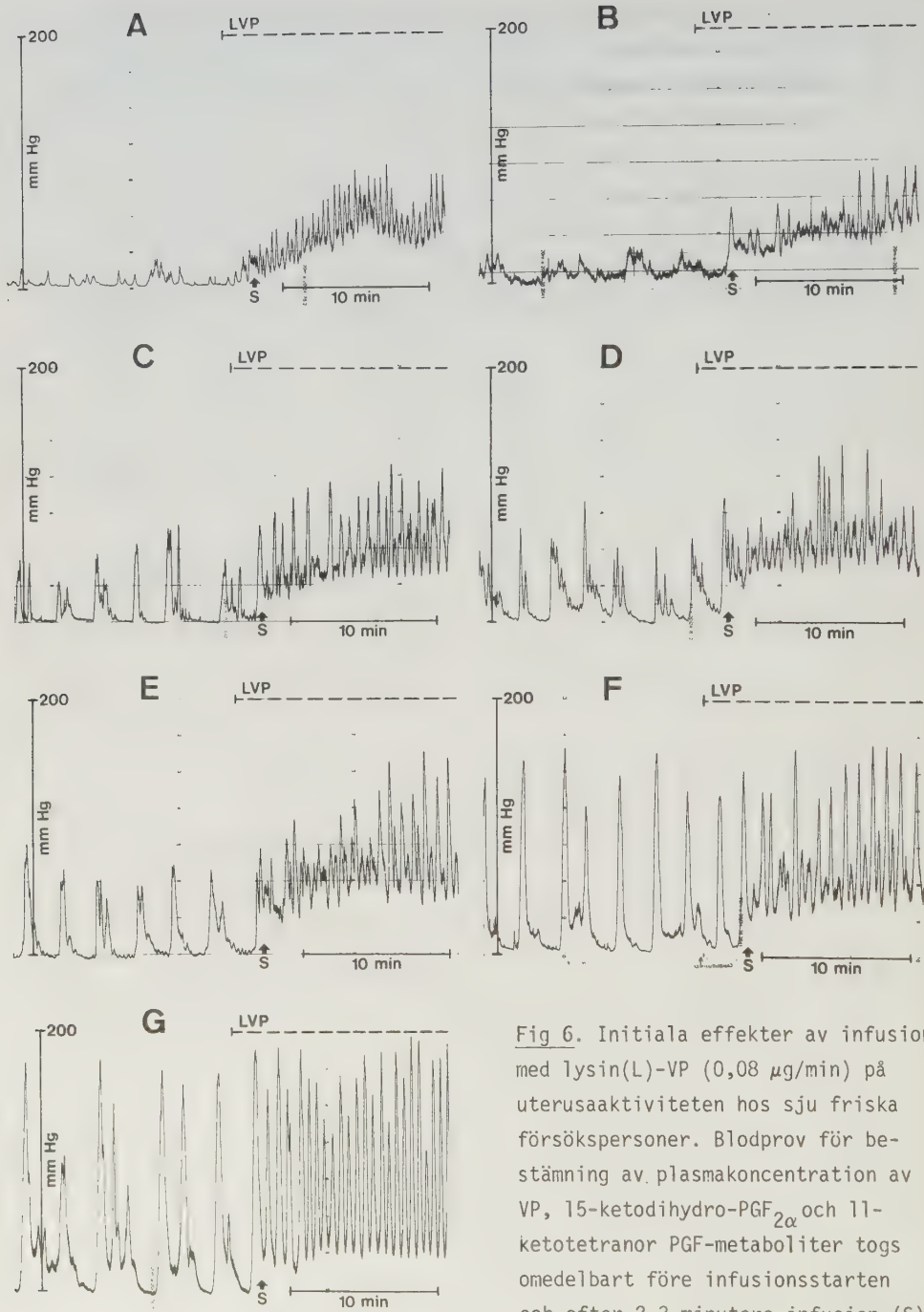


Fig 6. Initiala effekter av infusion med lysin(L)-VP ( $0,08 \mu\text{g}/\text{min}$ ) på uterusaktiviteten hos sju friska försökspersoner. Blodprov för bestämning av plasmakoncentration av VP, 15-ketodihydro-PGF $_{2\alpha}$  och 11-ketotetranor PGF-metaboliter togs omedelbart före infusionsstarten och efter 2-3 minuters infusion (S).

Som framgår av figur 6 hade VP en nästan omedelbar effekt på uterusaktiviteten och denna var klart förhöjd när blodproven togs. Plasmakoncentrationen av lysin-VP var i genomsnitt  $4,1 \pm 0,7$  (SEM)  $\mu\text{U/ml}$ , dvs högre än koncentrationen av arginin-VP i dysmenorrégrupperna i arbete II och VI. Enskilda VP-värden hos kvinnorna med dysmenorré tangerade dock eller t o m översteg den ovannämnda koncentrationen av lysin-VP vid infusion. Försöken med stimulering av uterusaktiviteten genom tillförsel av lysin-VP är dock inte helt jämförbara med situationen hos kvinnor med dysmenorré. Kvinnorna vid infusionsförsöken var äldre och hade samtliga fött barn. Önskvärt vore att göra liknande provokationsförsök hos unga kvinnor, som inte varit gravida, både hos sådana med och utan dysmenorré, och med lägre doser av tillfört VP. En sådan undersökning vore dock, med hänsyn till försökspersonernas ålder och förväntade obehag under registreringarna, något tveksam ur etisk synpunkt.

Av delarbete V framgick att stimulering av uterus med VP ökar plasmanivån av PGF-metaboliter men också att stimulering av myometrieaktiviteten tycks kunna ske direkt utan ett mellansteg med PG-frisättning. Likartad interaktion har påvisats mellan OXY och PG i gravid uterus (Fuchs, Husslein och Fuchs, 1981; Fuchs, Fuchs, Husslein och Soloff, 1982). I dessa studier konstaterades att OXY ökar kontraktionerna genom påverkan av OXY-receptorer i myometriet och samtidigt stimulerar PG-frisättning via OXY-receptorer i deciduan. Varken i icke gravid eller i gravid uterus tycks således hämning av PG-syntesen i någon större utsträckning kunna blockera baklobshormonernas direkta effekter på myometriet. Det finns alltså ett behov av andra substanser som mer specifikt kan blockera dessa hormon vid dysmenorré och kanske också vid prematura värkar. Vid det senare tillståndet har nya data framkommit som antyder att OXY kan vara en bakomliggande orsak (Fuchs et al, 1981). Mot denna bakgrund pågår för närvarande en utveckling av kompetitiva hämmare till VPs och OXYs effekter på myometriet (Melin, Vilhardt, Lindeberg, Larsson och Åkerlund, 1981; Åkerlund et al, 1983a; Åkerlund, Strömberg, Forsling, Melin och Vilhardt, 1983b)

#### Vasopressins betydelse vid menstruationssmärta

Smärtan vid primär dysmenorré har samband med ökad myometrieaktivitet (Woodbury, Torpin, Child, Watson och Jarboe, 1947; Mann, 1963; Filler och Hall, 1970; Åkerlund et al, 1976; Lundström, 1976) och minskat blodflöde i uterus (Åkerlund et al, 1976). Den huvudsakliga orsaken till själva

smärtan tycks vara uterusischemi, som kan orsakas både av kompression av uteruskärlen p g a den ökade myometriaktiviteten (Israel, 1967; Åkerlund et al, 1976) och av en direkt effekt av cirkulerande substanser på uteri blodkärl (Åkerlund et al, 1976; Åkerlund, 1978). VP påverkar kraftigt både myometrium och blodkärl i icke gravid uterus (Åkerlund och Andersson, 1976; Åkerlund et al, 1983a) och skulle alltså kunna bidra till dysmenorré genom båda dessa effekter. I arbete I, II och VI i denna avhandling sågs en klar förhöjning av VP-nivån i plasma hos kvinnor med dysmenorré. För VPs etiologiska betydelse talar också att VP-nivån tycktes vara högre vid intensivare smärta både vid premenstruella besvär och vid dysmenorré (VI). De märkliga smärtsynkrona variationer i uterusblodflödet, som tidigare iakttagits vid dysmenorréregistreringar (Åkerlund et al, 1976), skulle också kunna bero på VPs effekter eftersom kraftiga fluktuationer i VP-nivån iaktogs vid serieblodprovstagningarna i det sista arbetet. Intervallen mellan provtagningarna i detta arbete var dock troligen för långa för att fånga alla variationer i insöndringen. För att i detalj klarlägga det sannolika sambandet mellan VP-insöndring, myometriaktivitet, uterusblodflöde och smärta fordras tätare provtagningar under pågående registrering av myometriaktivitet och uterusblodflöde.

Det går inte att helt utesluta att smärtan i sig kan ha bidragit till åtminstone en del av VP-förhöjningen hos kvinnor med dysmenorré. Denna mekanism är dock mindre trolig. I arbete II kvarstod VP-förhöjningen på ungefär samma nivå hos dysmenorrékvinnorna även efter smärtlindring. I arbete V steg inte VP-nivån vid  $\text{PGF}_{2\alpha}$ -infusion som provocerade ökad uterusaktivitet och dysmenorréliknande symptom. Om trots allt en del av VP-förhöjningen vid dysmenorré är sekundär skulle även en sådan förhöjning i sin tur kunna bidra till smärtan.

Ett ytterligare bevis för VPs etiologiska roll vid tillståndet är nyligen erhållna resultat vid behandling av primär dysmenorré med en VP-analog. Substansen, som verkar kompetitivt hämmande på VPs effekter på uterus (Melin et al, 1981), hade en klar terapeutisk verkan hos flertalet av dysmenorrépatienterna vid intranasal tillförsel i dubbel-blind-försök (opublicerat).

PGs etiologiska roll vid primär dysmenorré är numera ett etablerat faktum. Smärtan skulle främst kunna orsakas av PGs effekter på myometriet (se Ylikorkala och Dawood, 1978) men även av PGs inverkan på smärteceptorer i uterus (Ferreira, 1978). Olika författare har visat ett samband mellan dysmenorré och en förhöjd plasmanivå av PG-metaboliter (Lundström

och Gréen, 1978), tecken på en ökad PG-syntes i endometriet (Pickles, Hall, Best och Smith, 1965; Lundström och Gréen, 1978; Strömberg, Gustavii, Isaksson och Hultberg, 1982) och en terapeutisk effekt av substanser som verkar hämmande på PG-syntesen (Schwartz, Zor, Lindner och Naor, 1974; Lundström, Gréen och Wqvist, 1976; Csapo, Pulkkinen och Henzel, 1977; Henzel, Buttram, Segre och Besser, 1977; Anderson, Haynes, Fraser och Turnbull, 1978). Även i delarbete VI av denna avhandling sågs tecken på en ökad PG-syntes hos kvinnor med dysmenoré. Det fanns också en tendens till ett samband mellan symptomens svårighetsgrad och nivån av 15-ketodihydro-PGF<sub>2α</sub>. Beträffande 11-ketotetranor-metaboliterna, som bildas långsammare och är stabilare sågs tecken på ett samband med plasmanivån och symptomens svårighetsgrad 30 minuter tidigare. Koncentrationerna av 15-ketodihydro-PGF<sub>2α</sub>, som uppmättes hos kvinnorna med och utan menssmärtor i arbete VI, var högre än vad som framkommit i en tidigare undersökning med masspektrofotometrisk analys av denna metabolit (Lundström och Gréen, 1978). Förhållandet mellan de högsta koncentrationerna i smärtgruppen och koncentrationerna i kontrollgruppen i arbete VI var dock ungefär densamma som i Lundströms och Gréens arbete.

Vid VP-infusionerna i arbete V utan förbehandling med naproxen steg koncentrationerna av PGF-metaboliter till ungefär samma nivåer som hos kvinnorna med dysmenoré (VI). Plasmanivåerna av VP vid provtagningarna i detta arbete var dock suprafysiologiska. Sannolikt kan emellertid även VP i de nivåer som uppmättes vid dysmenoré orsaka ökad PG-syntes. I den här i sammanfattningen beskrivna undersökningen med provtagning efter 2-3 minuters VP-infusion var nivåerna av 15-ketodihydro-PGF<sub>2α</sub> redan då högre än i utgångsläget (tabell I i sammanfattningen). VP-stegringen vid dysmenoré kan alltså åtminstone i en del fall vara primär och PG-stegringen sekundär. Av intresse i detta sammanhang är skillnaden mellan kvinnor med premenstruell smärta och kvinnor med dysmenoré i arbete VI. Hos kvinnorna med premenstruell smärta var VP men inte PG-nivån förhöjd. Efter menstruationens början förekom hos kvinnorna med dysmenoré även tecken på ökad PG-syntes.

Sammanfattningsvis talar resultaten i denna avhandling för att den förhöjda VP-insöndringen hos kvinnor med dysmenoré bidrar till de kraftiga myometriekontraktionerna, uterusischemin och smärtan vid tillståndet. Det är troligt att den svåra dysmenorésmärtan är ett resultat av en kombinerad effekt av VP och PG på uterus. Fall där VP inte spelar roll för uppkomsten av dysmenoré förekommer med all sannolikhet också.

## KONKLUSION

1. VP-nivån i plasma är i allmänhet förhöjd hos kvinnor med primär dysmenorré.
2. Smärtan i sig har sannolikt ingen större inverkan på VP-insöndringen hos kvinnor med dysmenorré.
3. VP-insöndringen varierar på ett typiskt sätt under menstruationscykeln hos normala kvinnor med högst nivå under ovulationstid och lägst vid menstruationens början.
4. Östrogen stimulerar till en ökad VP-insöndring. Progesteron eller åtminstone medroxyprogesteron har ingen egen effekt men motverkar den stimulerande effekten av östrogen.
5. VP ökar uterusaktiviteten under samtidig ökning av PG-syntesen. Denna PG-syntes är dock inte nödvändig för VPs effekt på myometriet. Stimulering av uterusaktiviteten med  $\text{PGF}_{2\alpha}$  påverkar inte VP-nivån i plasma.
6. Den förhöjda VP-insöndringen hos kvinnor med dysmenorré bidrar sannolikt till smärtan vid tillståndet. VP kan troligen orsaka uterusvärta både direkt genom påverkan på myometriet och uterusblodflödet och indirekt genom att stimulera till ökad PG-syntes i endometriet.

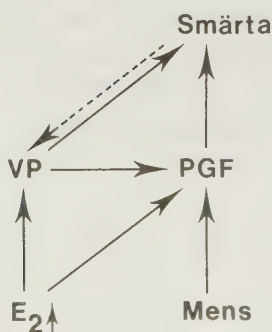


Fig 7. Det förmodade samspillet mellan VP, östradiol ( $E_2$ ), PGF och menstruations-smärta.

Mitt uppriktiga och hjärtliga tack till:

Alla Er kvinnor som deltagit som försökspersoner, för Ert intresse och för Er positiva inställning till undersökningarna i denna avhandling. Vidare för att Ni vid våra kontakter förmedlat iakttagelser och upplevelser som inte bara ökat min respekt för Era symptom utan som också sporrat mig till fortsatta studier för att försöka att ytterligare klarlägga orsakerna till dessa symptom.

Docent Mats Åkerlund, för ovärderlig vetenskaplig handledning, ständig uppmuntran och varm vänskap.

Senior Lecturer Mary Forsling, för stimulerande och lärorikt samarbete.

Docenterna Elisabeth Granström och Hans Kindahl, för värdefulla synpunkter och givande samarbete.

Min före detta chef Professor Lars Philip Bengtsson och min nuvarande chef Professor Birger Åstedt, för stöd och uppmuntran och för att ha fått utnyttjat kvinnokliniken i Lunds alla resurser i min forskning.

Professor Nils-Otto Sjöberg för alla omsorger om oss doktorander.

Docenterna Frederik Paulsen och Per Melin, för generöst stöd och för värdefulla råd och synpunkter.

Laboratorieassistenterna Ann-Mari Carlsson, Bodil Larsson och Berit Levin, för noggrann och skicklig assistans.

Sekreterarna Astrid Hansson, Eva Kroon och Eva Persson, för extraordinära insatser vid manuskriptens och avhandlingens utskrivning.

All annan personal på kvinnokliniken i Lund, som gett mig en hjälpande hand i samband med undersökningarnas genomförande.

Ekonomiskt stöd till undersökningarna i denna avhandling har lämnats av Ferring AB, Kungliga Fysiografiska Sällskapet, Lunds Universitet och Medicinska Forskningsrådet.

## REFERENSER

Acher R, Chauvet J. La structure de la vasopressine de boeuf.  
Biochim Biophys Acta 12:487, 1953

Altura BM. Evaluation of neurohumoral substances in local regulation of blood flow.  
Am J Physiol 212:1447, 1967

Andersson ABM, Haynes PJ, Fraser IS, Turnbull AC. Trial of prostaglandin synthetase inhibitors in primary dysmenorrhoea.  
Lancet i:345, 1978

Batra S, Sjöberg N-O, Thorbert G. Estrogen and progesterone interactions in the rabbit uterus in vivo after steroid administration.  
Endocrinology 102:268, 1978

Bengtsson LPh. Effect of progesterone upon the in vivo response of the human myometrium to oxytocin and vasopressin.  
Acta Obstet Gynecol Scand 49 (Suppl 6):19, 1970

Bloom FE. Neuropeptides. Scientific Am 245 (4):146, 1981  
Brennan TC, Shelton RL, Robertson GL. Effect of stress on plasma vasopressin and corticosterone in rats.  
Clin Res 23:234A, 1975

Brennan TC, Shelton RL, Robertson GL. Effect of stress on plasma vasopressin and corticosterone in rats.  
Clin Res 23:234A, 1975

Chard T. Review: The radioimmunoassay of oxytocin and vasopressin.  
J Endocrinol 58:143, 1973

Chard T, Forsling ML. Bioassay and radioimmunoassay of oxytocin and vasopressin. In: Hormones in Human Blood (ed. HN Antoniades)  
Harvard University Press, Cambridge (Mass), 1976, p 488

Cobo E, Cifuentes R, de Villamizar M. Inhibition of menstrual uterine motility during water diuresis.

Am J Obstet Gynecol 132:313, 1978

Cowley AW, Switzer SJ, Guinn MM. Evidence and quantification of the vasopressin arterial pressure control system in the dog.

Circ Res 46:58, 1980

Csapo AI, Pulkkinen MO, Henzl MR. The effect of naproxen-sodium on the intrauterine pressure and menstrual pain of dysmenorrheic patients.

Prostaglandins 13:193, 1977

Coutinho EM, Lopes ACV. Response of the nonpregnant uterus to vasopressin as an index of ovarian function.

Am J Obstet Gynecol 102:479, 1968

Coutinho EM. Oxytocic and antidiuretic effects of nausea in women.

Am J Obstet Gynecol 105:127, 1969

Coutinho EM, Filho JA, Xavier R, Ruchs A-R, Fuchs F. Effect of ethanol on the response of the nonpregnant human uterus to oxytocin and vasopressin.

J Obstet Gynaec Brit Cwlth 77:164, 1970

Czekanowski R, Mosler KH. Über den Einfluss kontrahierender und hemmender Substanzen auf Perfusionsdruck und Kontraktilität des nichtschwangeren menschlichen Uterus in vitro. I. Teil.

Arch Gynaekol 215:39, 1973

de Wied D. Behavioral effects of intraventricularly administered vasopressin and vasopressin fragments.

Life Sci 19:685, 1976

Dyer DC, Gough ED. Comparative actions of selected vasoactive drugs on isolated human uterine arteries.

Am J Obstet Gynecol 111:820, 1971

Dudley HW. Some observations on the active principles of the pituitary gland.

J Pharmacol 14:295, 1919

Edwards CRW. Vasopressin and oxytocin in health and disease  
Clin Endocrinol Metab 6 No 1:223, 1977

Embrey MP, Moir C. A comparison of the oxytocic effects of synthetic vasopressin and oxytocin.  
J Obstet Gynaec Brit Cwlth 74:648, 1967

Ferreira SH, Nakumara M, de Abreu Castro MS. The hyperalgesic effects of prostacyclin and prostaglandin E<sub>2</sub>.  
Prostaglandins 16:31, 1978

Filler WW, Hall WC. Dysmenorrhea and its therapy: A uterine contractility study.  
Am J Obstet Gynecol 106:104, 1970

Forsling ML, Ullmann E. Plasma vasopressin and renal concentrating ability in the anaesthetised dog.  
J Endocrinol 63:41, 1974

Forsling ML. Renal actions of vasopressin. In: Anti-diuretic Hormone. Eden Press, Quebec, Canada, Vol 1, 1976a, p 69

Forsling ML. Assay of vasopressin. In: Anti-diuretic Hormone. Eden Press, Quebec, Canada, Vol 1, 1976b, p 18

Forsling ML. Nonosmotic factors in vasopressin release. In: Anti-diuretic Hormone. Eden Press, Quebec, Canada, Vol 4, 1979, p 47

Forsling ML, Taverne MAM, Darvizi N, Elsaesser F, Smidt D, Ellendorff F. Plasma oxytocin and steroid concentrations during late pregnancy, partuition and lactation in the miniature pig.  
J Endocrinol 82:61, 1979

Fuchs A-R, Coutinho EM, Xavier R, Bates PE, Fuchs F. Effect of ethanol on the activity of the nonpregnant human uterus and its reactivity to nemohypophyseal hormones.  
Am J Obstet Gynecol 101:997, 1968

Fuchs A-R, Coutinho EM. Suppression of uterine activity during menstruation by expansion of the plasma volume.

Acta Endocrinol 66:183, 1971

Fuchs A-R, Husslein P, Fuchs F. Oxytocin and the initiation of human parturition. II. Stimulation of prostaglandin production in human decidua by oxytocin.

Am J Obstet Gynecol 141:694, 1981

Fuchs A-R, Fuchs F, Husslein P, Soloff MS, Fernström NJ. Oxytocin receptors and human parturition: a dual role for oxytocin in the initiation of labor.

Sci 215:1396, 1982

Gold PW, Goodwin FK, Rues VI. Vasopressin in affective illness.

Lancet i:1233, 1978

Granström E, Kindahl H. Radioimmunoassay for prostaglandin metabolites.

In: Advances in Prostaglandin and Thromboxane Research (Samuelson B och Paoletti R, Eds)

Raven Press, New York, 1976a

Granström E, Kindahl H. Radioimmunoassay for urinary metabolites of prostaglandin  $F_{2\alpha}$ .

Prostaglandins 12: 759, 1976b

Granström E, Kindahl H. Radioimmunoassay of the major plasma metabolite of  $PGF_{2\alpha}$ , 15-keto-13,14-dihydro- $PGF_{2\alpha}$ .

Methods Enzymol 86:320, 1982a

Granström E, Kindahl H, Swahn M-L. Profiles of prostaglandin metabolites in the human circulation. Identification of late-appearing, long-lived products.

Biochem Biophys Acta 713:46, 1982b

Granström E, Kindahl H. Radioimmunoassay of  $5\alpha,7\alpha$ -dihydroxy-11-keto-tetranorpropane-1,16-dioic acid, a major prostaglandin F metabolite in blood and urine.

Methods Enzymol 86:339, 1982c

Harris GW. Neural control of the pituitary gland.

London, Edward Arnold (Publ) Ltd, 1955, p 199

Henzl MR, Buttram V, Segre EJ, Besser S. The treatment of dysmenorrhea with naproxen sodium. A report of two independent double-blind trials.

Am J Obstet Gynecol 127:818, 1977

Husslein P, Fuchs A-R, Fuchs F. Oxytocin and the initiation of human parturition. I. Prostaglandin release during induction of labor by oxytocin.

Am J Obstet Gynecol 141:688, 1981

Israel S. Diagnosis and treatment of menstrual disorders and sterility.

Fifth edition. New York, Harper and Row Publ, 1967, p 138

Jeppsson S, Johansson EDB. Medroxyprogesterone acetate, estradiol, FSH and LH in peripheral blood after intramuscular administration of Depo-Provera<sup>R</sup> to women.

Contraception 14:461, 1976

Joelsson I, Ingelman-Sundberg A, Sandberg F. The in vivo effect of oxytocin and vasopressin on the nonpregnant human uterus.

J Obstet Gynaec Brit Cwlth 73:832, 1966

Laudanski T, Åkerlund M. Interaction of vasopressin and prostaglandin on myometrial activity in vivo in the first trimester of human pregnancy.

Br J Obstet Gynaecol 87:132, 1980

Lundström V, Gréen K, Wiqvist N. Prostaglandins, indomethacin and dysmenorrhea.

Prostaglandins 11:893, 1976

Lundström V, Gréen K. Endogenous levels of prostaglandin F<sub>2α</sub> and its main metabolites in plasma and endometrium of normal and dysmenorrheic women.

Am J Obstet Gynecol 130:640, 1978

Mann EC. Progress in gynecology.

Vol IV. New York, Grune and Stratton Inc, 1963, p 123

Melin P, Vilhardt H, Lindeberg G, Larsson L-E, Åkerlund M. Inhibitory effect of O-alkylated analogues of oxytocin and vasopressin on human and rat myometrial activity.

J Endocrinol 88:173, 1981

Miller FC, Yeh S-Y, Schifrin B, Paul R, Hon E. Quantification of uterine activity in 100 primiparous patients.

Am J Obstet Gynecol 124:398, 1976

Moir JC. Effect of posterior lobe pituitary gland fractions on human uterus. J Obstet Gynaec Brit Emp 51:181, 1944

Monos E, Cox RH, Peterson LH. Direct effects of physiological doses of arginine-vasopressin on the arterial wall in vivo.

Am J Physiol 234:H167, 1978

O'Connor WJ, Quart J. The effect of section of the supraoptico-hypophyseal tracts on the inhibition of water-diuresis by emotional stress.

Quart J Exper Physiol 33:149, 1946

Oliver G, Schafer EH. On the physiological action of extracts of pituitary body and certain other glandular organs.

J Physiol 18:277, 1895

Pickles VR, Hall WJ, Best FA, Smith GN. Prostaglandins in endometrium and menstrual fluid from normal and dysmenorrheic subjects.

J Obstet Gynaecol Brit Cwlth 72:185, 1965

Pierce JG, du Vigneaud V. Preliminary studies on the amino acid content of a high potency preparation of the oxytocic hormone of the posterior lobe of the pituitary gland.

J Biol Chem 182:359, 1950

Popenoe EA, Lawler HC, du Vigneaud V. Partial purification and amino acid content of vasopressin from hog posterior pituitary glands.

J Am Chem Soc 74:3713, 1952

Robertson GL. The regulation of vasopressin function in health and disease.

In: Recent Progress in Hormone Research.

New York: Academic 23:333, 1977

Rydin H, Verney EB. The inhibition of water-diuresis by emotional stress by and by muscular exercise.

Q J Exp Physiol 27:343, 1938

Schrier RW, Berl T. Nonosmolar factors affecting renal water excretion.

N Engl J Med 292:81-88, 141-145, 1975

Schrier RW, Berl T, Anderson RJ. Osmotic and nonosmotic control of vasopressin release.

Am J Physiol 236(4):F321, 1979

Schwartz A, Zor U, Lindner HR, Naor S. Primary dysmenorrhea. Alleviation by an inhibition of prostaglandin synthesis and action.

Obstet Gynecol 44:709, 1974

Skowsky WR, Rosenbloom AA, Fisher DA. Radioimmunoassay measurement of arginine vasopressin in serum: Development and application.

J Clin Endocrinol Metab 38:278, 1974

Skowsky WR, Swan L, Smith P. Effects of sex steroid hormones on arginine vasopressin in intact and castrated male and female rats.

Endocrinology 104:105, 1979

Strömberg P, Gustavii B, Isaksson A, Hultberg B. Increased activity of lysosomal enzymes in plasma of dysmenorrheic women.

Lancet i:158, 1982

Sundqvist J, Forsling ML, Olsson JE, Åkerlund M. Cerebrospinal fluid arginine vasopressin in degenerative disorders and other neurological diseases.

J Neurol Neurosurg Psych 1983. In press.

Turner RA, Pierce JG, du Vigneaud V. The purification and the amino acid content of vasopressin preparations.

J Biol Chem 191:21, 1951

Wathes DC, Swann RW, Pickering BT, Porter DG, Hull MGR, Drife JO.

Neurohypophyseal hormones in the human ovary.

Lancet i:410, 1982

Verney EB. The antidiuretic hormone and the factors which determine its release.

Proc Roy Soc Lond Biol B 135:25, 1947

Weitzman RE, Fisher DA, Distefano JJ, Bennett CM. Episodic secretion of arginine vasopressin.

Am J Physiol 233:E32, 1977

Woodbury RA, Torpin R, Child GP, Watson H, Jarboe M. Myometrial physiology and its relation to pelvic pain

JAMA 134:1081, 1947

Yalow RS, Berson SA. Immunoassay of endogenous plasma insulin in man.

J Clin Invest 39:1157, 1960

Ylikorkala O, Dawood MY. New concepts in dysmenorrhea.

Am J Obstet Gynecol 130:833, 1978

Ylikorkala O, Puolakka J, Kauppila A. Serum gonadotrophins, prolactin and ovarian steroids in primary dysmenorrhoea.

Br J Obstet Gynaecol 86:648, 1979

Åkerlund M, Andersson K-E. Vasopressin response and terbutaline inhibition of the uterus.

Obstet Gynecol 48:528, 1976

Åkerlund M, Andersson K-E, Ingemarsson I. Effects of terbutaline on myometrial activity, uterine blood flow, and lower abdominal pain in women with primary dysmenorrhoea.

Br J Obstet Gynaecol 83:673, 1976

Åkerlund M, Andersson K-E, Bengtsson LPh, Laudanski T. Uterine activity in diabetes insipidus.

Acta Obstet Gynecol Scand 56:381, 1977

Åkerlund M, Bengtsson LPh, Ulmsten U. Recording on myometrial activity in nonpregnant human uterus by a microtransducer catheter.

Acta Obstet Gynecol Scand 57:429, 1978

Åkerlund M. Pathophysiology of dysmenorrhea.

Acta Obstet Gynecol Scand Suppl 87:27, 1979

Åkerlund M, Kostrzevska A, Laudanski T, Melin P, Vilhardt H. Vasopressin effects on isolated nonpregnant myometrium and uterine arteries and their inhibition by deamino-ethyl-lysine-vasopressin and deamino-ethyl-oxytocin. Br Obstet Gynaecol 1983a. Submitted for publication.

Åkerlund M, Strömberg P, Forsling M, Melin P, Vilhardt H. Inhibition of vasopressin effects on the uterus by a synthetic analogue.

Obstet Gynecol 1983b. In press.

## PRIMARY DYSMENORRHOEA AND VASOPRESSIN

BY

M. ÅKERLUND, *Assistant Professor*

P. STRÖMBERG, *Medical Registrar*

*Department of Obstetrics and Gynaecology  
University Hospital, S-221 85 Lund, Sweden*

AND

M. L. FORSLING, *Senior Lecturer*

*Department of Physiology  
Middlesex Hospital Medical School, London*

### Summary

The circulating concentrations of arginine vasopressin on day 1 and on day 5 to 7 of the menstrual cycle were measured by radioimmunoassay in six women with primary dysmenorrhoea and five controls. All women had ovulated in the previous cycle, as indicated by the mid-luteal phase plasma progesterone levels and had normal plasma osmolality and sodium concentrations. The plasma concentrations of progesterone and oestradiol on day 1 of the cycle were also measured, and no significant difference between the two groups was seen. In women with dysmenorrhoea the vasopressin concentration on day 1 was  $0.40 \pm 0.038$  (SE)  $\mu\text{U/ml}$  which was significantly higher than the concentration in normal women on the same day of the cycle  $0.20 \pm 0.063$  (SE)  $\mu\text{U/ml}$  ( $p < 0.01$ ). The plasma concentration of vasopressin in normal women on day 5 to 7 was  $0.68 \pm 0.119$  (SE)  $\mu\text{U/ml}$  which was significantly higher than on day 1 ( $p < 0.01$ ). A significant difference between day 1 and day 5 to 7 was not seen in dysmenorrhoeic women, possibly because the values were already elevated on day 1. The results suggest that vasopressin could be a factor of aetiological importance in primary dysmenorrhoea, and also indicate that the vasopressin concentration in plasma can vary according to the day of the menstrual cycle.

In primary dysmenorrhoea the pain seems to be associated with increased myometrial activity (Woodbury *et al*, 1947; Filler and Hall, 1970; Åkerlund *et al*, 1976; Csapo *et al*, 1977) and decreased blood flow in the uterus (Åkerlund *et al*, 1976). Vasopressin could be of aetiological importance in this condition, since administration of vasopressin to non-pregnant women at the onset of menstruation causes a marked increase in uterine activity (Joelsson *et al*, 1966; Coutinho and Lopes, 1968; Bengtsson, 1970;

Åkerlund and Andersson, 1976) and a decrease in uterine blood flow (Åkerlund and Andersson, 1976). Furthermore, recordings of uterine blood flow from women with dysmenorrhoea often show cyclic variations with a periodicity of 15 to 30 minutes (Åkerlund *et al*, 1976), which is suggestive of vasopressin involvement, since, like other hypothalamic hormones, it may be secreted episodically (Weitzman *et al*, 1977). The concentration of vasopressin in plasma can now be accurately determined by radioimmuno-

assay (Chard and Forsling, 1976) and this allowed a study of the possible role of vasopressin in primary dysmenorrhoea.

#### METHODS

##### Subjects

Ten volunteers suffering from severe primary dysmenorrhoea and ten gynaecologically healthy women with no menstrual pains participated in the study. The women with dysmenorrhoea reported symptoms occurring two to four years after their menarche and at the time of the study they were so disabled by the condition that they were unable to work for one to three days during each menstruation. Women from neither group had signs of pelvic or gynaecological disease. None of the women used hormonal contraception or had an intrauterine contraceptive device. No medication was taken during the period of the study.

##### Procedure

All women had regular cycles with an interval of 26 to 33 days between periods which lasted between four and seven days. Venous blood samples were obtained on the first and on the fifth to seventh day of the cycle. On the morning of sampling the women had a normal breakfast and did not smoke. The first sample (I) was obtained around 0900 hours, after 30 minutes rest in sitting position. A second sample (II) was obtained 30 minutes later. At the time of sampling the women with dysmenorrhoea were asked to report on the severity of their symptoms. The sampling procedure was repeated on the fifth to seventh days of the cycle (III and IV). For vasopressin analysis, 10 ml of blood were obtained in chilled plastic tubes. They were immediately centrifuged at 2500 g for 25 minutes at 5°C; the plasma was separated, frozen and kept at -20°C. Plasma osmolality and sodium concentration were measured in samples obtained immediately after the vasopressin samples. In addition, the concentrations of oestradiol and progesterone were measured by radioimmunoassay in plasma taken on the first menstrual day and in a sample which had been obtained around day 21 in the preceding menstrual cycle (for details of the assay, see Batra *et al*, 1978). Vasopressin determinations were made on plasma extracted with bentonite

(Skowsky *et al*, 1974) using a radioimmunoassay technique based on that of Chard and Forsling (1976). Iodination was accomplished by lactoperoxidase (Karonen *et al*, 1975).

Statistical evaluation of the results was carried out using the Mann-Whitney Test (Wilcoxon, 1945; White, 1952).

#### RESULTS

Data from women with plasma osmolality and sodium concentrations outside the normal range (260–310 mosmol/l and 136–146 mmol/l, respectively), from women who had not ovulated in the previous cycle as indicated by the plasma progesterone concentration at day 21, and from dysmenorrhoeic women who had no pain at the time of sampling were excluded. This left six women with dysmenorrhoea and five controls in the study. The vasopressin concentrations in the two groups on day 1 and day 5 to 7 of the cycle are shown in Table I. On day 1 the mean vasopressin concentration in plasma of women with dysmenorrhoea was approximately twice that in the controls, the difference being statistically significant ( $p < 0.05$ ). When all the available values from both sample I and II were used for statistical comparison, the difference became even more significant ( $p < 0.01$ ). It was also found that the vasopressin concentration in the controls on day 5 to 7 was significantly higher than during the day 1, both when the mean values for each day and all available values were compared ( $p < 0.01$  in both instances). In women with dysmenorrhoea the mean vasopressin level was also somewhat higher on day 5 to 7 than on day 1, although this difference did not attain statistical significance. Neither was there any significant difference between the plasma concentration in dysmenorrhoeic women and controls on day 5 to 7.

The plasma concentration of oestradiol in dysmenorrhoeic women during day 1 was  $82 \pm 12.1$  (SEM) pg/ml, which was not significantly different from the values of the control group ( $66 \pm 15.8$  pg/ml). Neither was any significant difference observed in the plasma concentration of progesterone which was  $0.40 \pm 0.10$  (SEM) ng/ml and  $0.32 \pm 0.05$  ng/ml in the dysmenorrhoeic and control groups, respectively.

The plasma osmolality and plasma sodium

TABLE I

*Vasopressin concentrations in plasma ( $\mu\text{U/ml}$ ) in six women with dysmenorrhoea and five controls during day 1 and day 5 to 7 of the menstrual cycle*

|                          | Severity of symptoms | Cycle day 1 |             |             | Cycle day 5 to 7 |             |             |
|--------------------------|----------------------|-------------|-------------|-------------|------------------|-------------|-------------|
|                          |                      | Sample I    | Sample II   | Mean        | Sample III       | Sample IV   | Mean        |
| Women with dysmenorrhoea | Light                | 0.32        | 0.67        | 0.50        | 0.83             | 1.26        | 1.04        |
|                          | Medium               | 0.56        | 0.35        | 0.46        | 0.19             | 0.10        | 0.15        |
|                          | Severe               | 0.35        | 0.30        | 0.33        | 0.47             | 0.44        | 0.46        |
|                          | Severe               | 0.30        | 0.42        | 0.36        | 0.77             | 0.81        | 0.80        |
|                          | Severe               | 0.26        | 0.28        | 0.27        | 0.22             | 0.18        | 0.20        |
|                          | Severe               | 0.48        | 0.50        | 0.49        | 1.05             | 0.85        | 0.95        |
| Mean                     |                      | 0.38        | 0.42        | 0.40        | 0.59             | 0.61        | 0.60        |
| $\pm\text{SEM}$          |                      | $\pm 0.048$ | $\pm 0.046$ | $\pm 0.038$ | $\pm 0.143$      | $\pm 0.182$ | $\pm 0.154$ |
| Controls                 |                      | 0.50        | 0.40        | 0.45        | 0.70             | 1.10        | 0.90        |
|                          |                      | 0.17        | 0.20        | 0.19        | 1.00             | 0.80        | 0.90        |
|                          |                      | 0.11        | 0.12        | 0.12        | 0.60             | 0.57        | 0.59        |
|                          |                      | 0.14        | 0.19        | 0.17        | 0.60             | 0.89        | 0.75        |
|                          |                      | 0.06        | 0.15        | 0.11        | 0.26             | —           | 0.26        |
| Mean                     |                      | 0.20        | 0.21        | 0.21        | 0.63             | 0.84        | 0.68        |
| $\pm\text{SEM}$          |                      | $\pm 0.078$ | $\pm 0.049$ | $\pm 0.063$ | $\pm 0.183$      | $\pm 0.215$ | $\pm 0.119$ |

were not significantly different on day 1 and day 5 to 7, nor was there any difference between the control and dysmenorrhoeic women.

#### DISCUSSION

The present study demonstrated a significantly higher plasma concentration of arginine vasopressin in women with primary dysmenorrhoea than in healthy controls on the day 1 of the cycle. No differences in the plasma levels of progesterone and oestradiol were found between the two groups at this time. A second interesting finding was the significantly higher vasopressin concentration in the normal women on cycle day 5 to 7 compared with day 1. This difference was also seen in the controls excluded from the study, but not in the women with dysmenorrhoea, probably because the concentrations were already elevated on day 1.

It is not possible to decide from the present data whether vasopressin played a role in the genesis of dysmenorrhoea or if the increased vasopressin secretion, compared with that in controls, resulted from the menstrual pain. The fact that the subjects in the dysmenorrhoeic group had a higher vasopressin concentration on day 5 to 7 does not exclude the possibility that

vasopressin played a role in the induction of pain on the first menstrual day through an action on the uterus. The uterine sensitivity to vasopressin varies in the menstrual cycle, and the effect is most pronounced at the onset of menstruation and least at the time of ovulation (Joelsson *et al*, 1966; Coutinho and Lopes, 1968; Bengtsson, 1970; Åkerlund and Andersson, 1976).

In recent studies on the cause of the myometrial hyperactivity in primary dysmenorrhoea, interest has almost exclusively been focused on the role of prostaglandins originating from the endometrium (see Halbert *et al*, 1976; Ylikorkala and Dawood, 1978). The successful use of drugs, inhibiting prostaglandin synthesis and action, in the treatment of dysmenorrhoea, together with the reduction of uterine hypercontractility which can be achieved by these drugs, has strengthened the belief in a role for prostaglandins in this condition. However, the concentrations of prostaglandins are elevated in some but not all patients with dysmenorrhoea, so that the prostaglandin theory cannot in all cases explain the myometrial hypercontractility associated with the condition (Halbert *et al*, 1976). Furthermore, other uterine stimulants might well act via final prostaglandin release

(Csapo and Csapo, 1974), and both uterine stimulants and other factors, such as the ovarian steroids, probably influence the synthesis of uterine prostaglandins (see Halbert *et al*, 1976).

Of the two posterior pituitary hormones, oxytocin seems to have a physiological role in stimulating myometrial activity during labour at full term (Chard, 1977). Vasopressin is a considerably stronger uterine stimulant than oxytocin in the nonpregnant condition, especially at the onset of menstruation (Joelsson *et al*, 1966; Coutinho and Lopes, 1968; Bengtsson, 1970). Warren and Hawker (1967) found that plasma oxytocin in 11 dysmenorrhoeic women, as determined by bioassay, was lower than that in matched control subjects. While this appeared to be a paradoxical finding, they concluded that when oxytocin levels are low, the uterine contractions, induced mainly by vasopressin, are dysrhythmic and painful. We are not aware of any studies on the plasma concentration of vasopressin in primary dysmenorrhoea, although there is a preliminary report suggesting a variation in vasopressin levels throughout the menstrual cycle (Skowsky and Swan, 1977 unpublished). The two principal findings of the present study, the difference in vasopressin concentration between dysmenorrhoeic women and controls on day 1 of the cycle, and a variation in vasopressin secretion, related to the cycle, should focus interest on the possible significance of this hormone both in reproductive physiology and in pathological conditions with menstrual disturbances.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

We are grateful to Professor L. Ph. Bengtsson for his stimulating interest in this investigation. We also thank Dr S. Batra and the staff at the Research Laboratory, Department of Obstetrics and Gynaecology, Lund, for performing the assays of oestradiol and progesterone and Dr H. Vilhardt for advice on the statistics. M.Å. and P.S. are supported by grants from Ferring AB,

the Ford Foundation, Kungl. Fysiografiska Sällskapet, Lund University and T. and S. Segerfalks Stiftelse.

#### REFERENCES

- Åkerlund, M., and Andersson, K.-E. (1976): *Obstetrics and Gynecology*, **48**, 528.
- Åkerlund, M., Andersson, K.-E., and Ingemarsson, I. (1976): *British Journal of Obstetrics and Gynaecology*, **83**, 673.
- Batra, S., Sjöberg, N.-O., and Thorbert, G. (1978): *Endocrinology*, **102**, 268.
- Bengtsson, L. Ph. (1970): *Acta obstetrica et gynaecologica Scandinavica* (Suppl. 6), **49**, 19.
- Chard, T., and Forsling, M. L. (1976): *Hormones in Blood*. Edited by H. N. Antoniades. Harvard University Press, Cambridge (Massachusetts), p 488.
- Chard, T. (1977): *Clinical Neuroendocrinology*. Edited by L. Martini and G. M. Besser. Academic Press, New York, p 569.
- Coutinho, E. M., and Lopes, A. C. V. (1968): *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, **102**, 479.
- Csapo, A. I., and Csapo, E. E. (1974): *Life Science*, **14**, 719.
- Csapo, A. I., Pulkkinen, M. O., and Henzl, M. R. (1977): *Prostaglandins*, **13**, 193.
- Filler, W. W., and Hall, W. C. (1970): *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, **106**, 104.
- Halbert, D. R., Demers, L. M., and Darnell Jones, D. E. (1976): *Obstetrical and Gynecological Survey*, **31**, 77.
- Joelsson, I., Ingelman-Sundberg, A., and Sandberg, F. (1966): *Journal of Obstetrics and Gynaecology of the British Commonwealth*, **73**, 832.
- Karonen, S.-L., Mörsky, P., Siren, M., and Seuderling, K. (1975): *Analytical Biochemistry*, **67**, 1.
- Skowsky, W. R., Rosenbloom, A. A., and Fisher, D. A. (1974): *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **38**, 278.
- Warren, N. L., and Hawker, R. W. (1967): *Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology*, **7**, 78.
- Weitzman, R. E., Fisher, D. A., DiStefano, J. J., and Bennet, C. M. (1977): *American Journal of Physiology*, **233**, E 32.
- White, C. (1952): *Biometrics*, **8**, 33.
- Wilcoxon, F. (1945): *Biometrics Bulletin*, **1**, 80.
- Woodbury, R. A., Torpin, R., Child, G. P., Watson, H., and Jarboe, M. (1947): *Journal of the American Medical Association*, **134**, 1081.
- Ylikorkala, O., and Dawood, Y. M. (1978): *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, **130**, 833.

# Effects of Prostaglandin Inhibition on Vasopressin Levels in Women with Primary Dysmenorrhea

PER STRÖMBERG, MD, MARY L. FORSLING, PhD, AND MATS ÅKERLUND, MD

Arginine vasopressin (AVP) concentrations in plasma were studied in women with primary dysmenorrhea before and after treatment with naproxen, and in healthy control women on the first day of menstruation. In the treated group the AVP concentration was about 4 times higher than that in the controls, and the AVP level remained unchanged after almost complete pain relief had been obtained by treatment with the prostaglandin synthesis inhibitor. No significant differences were found between the 2 groups in plasma osmolality and sodium concentration on the first day of menstruation, or in the concentrations of progesterone and estradiol at this time or in the midluteal phase of the preceding menstrual cycle. These results indicate that increased secretion of AVP may play an etiologic role in dysmenorrhea, activating the uterus via a final step of prostaglandin synthesis and release. (*Obstet Gynecol* 58:206, 1981)

Uterine prostaglandins seem to be important in the production of myometrial hyperactivity and uterine ischemia in primary dysmenorrhea.<sup>1,2</sup> However, other factors might also be involved in the genesis of this condition, and their mechanism of action could include ultimate prostaglandin synthesis and release.<sup>3</sup> One such factor is arginine vasopressin (AVP), a strong myometrial stimulant in nonpregnant women, particularly at the onset of menstruation,<sup>4</sup> when it also reduces markedly endometrial blood flow.<sup>5</sup>

In a recent study an elevated plasma level of AVP was found in women with primary dysmenorrhea,<sup>6</sup> but it was not clear whether this was of etiologic importance in the condition or whether the increased secretion of this hormone resulted from menstrual pain. In the present investigation a prostaglandin synthesis

inhibitor was given to women with primary dysmenorrhea to determine the effect of pain relief on AVP levels in this condition.

## Materials and Methods

Nine women with severe primary dysmenorrhea and 8 healthy controls with no menstrual pain participated in the study. All were well informed of the study procedure and gave their consent. The dysmenorrheic women were so disabled by the condition that in spite of analgesic treatment they were unable to work for 1 to 3 days during each menstruation. All women were nonparous and aged 23 to 33 years and had regular menstrual cycles with an interval of 27 to 33 days. None of the women had signs of gynecologic or pelvic disease, or used steroidal contraceptives or an intrauterine device during the study.

Samples of venous blood were collected on the morning of the first day of menstruation, 2 to 10 hours after onset. Before sampling the women rested in a sitting position for about 30 minutes. After the first series of samples had been obtained the women with dysmenorrhea were given naproxen orally (Naprosyn, Astra-Syntex, Sweden) at a dose of 500 mg. The women were instructed to report on the effects, and after 60 to 90 minutes the sampling procedure was repeated.

For AVP analysis 10-ml blood samples were taken in chilled plastic tubes. The samples were immediately centrifuged at  $2500 \times g$  for 20 minutes at 5°C. The plasma was then separated, frozen, and kept at  $-20^{\circ}\text{C}$  until assay, which was performed within 2 months. Vasopressin determinations were carried out on plasma extracted with bentonite<sup>7</sup> using radioimmunoassay as described by Lightman and Forsling.<sup>8</sup> The intraassay and interassay variations were 8.5 and 12.5%, respectively, and for reference solution the First International Standard of AVP (77-501) was used.

From the Department of Obstetrics and Gynecology, University Hospital, Lund, Sweden; and the Department of Physiology, Middlesex Hospital Medical School, London, England.

Supported by grants from Ferring AB, Lund University, Astra-Syntex Scandinavia AB, and T. and S. Segerfalks Stiftelse.

Submitted for publication December 23, 1980.

Plasma osmolality and sodium concentrations were measured in samples obtained immediately after the AVP samples. In addition the concentrations of estradiol and progesterone were measured by radioimmunoassay in plasma<sup>9</sup> taken on the first menstrual day and in samples obtained on days 21 to 23 of the preceding cycle.

Comparison of the data was performed using the Student *t* test.

Results

The plasma concentrations of AVP in dysmenorrheic women before and after treatment with naproxen and in controls are shown in Table 1. At the time of the second sampling, all dysmenorrheic women reported practically no pain and had experienced no side effect of the drug. The AVP level, which before treatment was  $1.71 \pm 0.43 \mu\text{U/ml}$  (mean  $\pm$  SEM), remained virtually unchanged after treatment ( $1.89 \pm 0.46 \mu\text{U/ml}$ ). On both occasions the concentrations were significantly higher than that in the controls ( $0.51 \pm 0.15 \mu\text{U/ml}$ ;  $P < .005$ ). Neither the plasma sodium concentration ( $141 \pm 0.8$  mmoles/liter) nor the plasma osmolality ( $290 \pm 2.0$  mOsm/liter) differed significantly from that of the controls ( $141 \pm 1.1$  mmoles/liter and  $296 \pm 7.2$  mOsm/liter, respectively).

All women had ovulated as judged by the plasma progesterone and estradiol concentrations in the mid-luteal phase of the menstrual cycle preceding AVP sampling. In dysmenorrheic women the concentrations (mean  $\pm$  SEM) of progesterone and estradiol at this time in the cycle were  $8.52 \pm 0.97$  ng/ml and  $185 \pm 4.5$  pg/ml, respectively, which were not significantly different from the concentrations of  $8.69 \pm 0.98$  ng/ml and  $164 \pm 4.3$  pg/ml in the controls. There was little correlation between AVP levels on day 1 and progesterone and estradiol concentrations in the mid-

luteal phase;  $r = -.13$  and  $-.40$ , respectively, in dysmenorrheic women, and  $r = -.24$  and  $-.30$ , respectively, in controls.

On the first day of menstruation the progesterone and estradiol concentrations in plasma (mean  $\pm$  SEM) were  $0.38 \pm 0.2$  ng/ml and  $62 \pm 2.6$  pg/ml, respectively, in the dysmenorrheic women, and  $0.62 \pm 0.3$  ng/ml and  $70 \pm 2.8$  pg/ml, respectively, in the controls. The differences between the 2 groups were not significant. The AVP concentrations were not related to the progesterone and estradiol concentrations ( $r = -.45$  and  $.15$ , respectively, in dysmenorrheic women, and  $r = .58$  and  $-.29$ , respectively, in controls).

Discussion

This study showed that in women with severe primary dysmenorrhea the plasma concentration of AVP was about 4 times higher than that in healthy controls on the first day of menstruation. No significant differences existed between the 2 groups in the plasma level of sodium, the plasma osmolality, and the concentration of ovarian hormones. Furthermore, the AVP level remained unchanged after almost complete pain relief had been obtained by treatment with naproxen. Thus, it is unlikely that the high AVP level in dysmenorrheic women was an effect of disturbance of the fluid balance, changes in ovarian hormone secretion, or the stress of menstrual pain.

The vasopressin concentration in dysmenorrheic women was considerably higher and the difference from controls greater than that found in a previous investigation.<sup>6</sup> This could possibly be explained by the selection of patients in the present study, as all the dysmenorrheic women had particularly severe symptoms. None of the women in the present study had participated in the previous study. However, the controls in the present study also had higher vasopressin levels than those in the previous investigation,<sup>6</sup> and a seasonal variation in vasopressin level as well as an interassay variation may have contributed to this difference. About 18 months elapsed between the 2 studies; during this time the standard for the vasopressin assay was changed. The important finding in the present study of a highly significant difference in vasopressin levels between dysmenorrheic women and controls is not affected by this, as plasma sampling and assay of vasopressin concentration was done simultaneously in these 2 groups.

The interaction of AVP and prostaglandin on the uterus has been previously discussed.<sup>3,10,11</sup> The finding that patients experience pain relief after treatment with naproxen is in agreement with the concept that AVP might activate the uterus through prostaglandin

Table 1. Plasma Levels of Vasopressin ( $\mu\text{U/ml}$ ) in Dysmenorrheic Women and in Controls on the First Day of Menstruation

| Dysmenorrheic women given naproxen |                 | Healthy controls |
|------------------------------------|-----------------|------------------|
| Before                             | After           |                  |
| 1.8                                | 1.4             | 0.6              |
| 1.2                                | 2.1             | 0.3              |
| 2.6                                | 1.5             | 0.5              |
| 1.1                                | 1.4             | 0.6              |
| 1.9                                | 3.1             | 0.3              |
| 1.8                                | 1.9             | 0.5              |
| 2.7                                | 1.9             | 0.4              |
| 1.2                                | 1.4             | 0.9              |
| 1.1                                | 2.1             |                  |
| $1.71 \pm 0.43$                    | $1.89 \pm 0.46$ | $0.51 \pm 0.15$  |

synthesis and release.<sup>3</sup> Naproxen has previously been shown to inhibit uterine activity in dysmenorrhea.<sup>12</sup> A potentiation of the AVP effect on the myometrium by prostaglandin could be a contributory factor in dysmenorrhea, as it is known from studies of the pregnant human uterus that these 2 myometrial agonists can act synergistically.<sup>10</sup>

Ylikorkala et al<sup>13</sup> reported an increased plasma level of estradiol-17 $\beta$  in the luteal phase of the cycle in dysmenorrheic women. In the present investigation no difference between dysmenorrheic women and controls was found in the concentrations of ovarian hormones in the midluteal phase; however, only 1 sample was taken at this phase of the cycle. Studies in the rat suggested that estrogen increases the plasma concentration of AVP,<sup>14</sup> and in a recent study of healthy women followed throughout a menstrual cycle the present authors found some correlation between estradiol and AVP concentrations in plasma.<sup>15</sup>

It was previously shown that uterine activity during menstruation can be inhibited by expansion of the plasma volume<sup>16</sup> or by inducing water diuresis,<sup>17</sup> 2 procedures that block the central release of vasopressin. In women with primary dysmenorrhea increased myometrial activity and decreased uterine blood flow were found,<sup>1</sup> which can also be caused by exogenous vasopressin administration.<sup>5</sup> These findings, combined with results from preliminary studies with AVP estimations in plasma, suggested AVP involvement in dysmenorrhea.<sup>3,6</sup> The present finding that the AVP level was significantly higher in dysmenorrheic women than in controls, and unchanged after pain relief was obtained by blocking prostaglandin synthesis, strongly supports an etiologic role of AVP in primary dysmenorrhea. To confirm this it would be valuable to perform studies of uterine activity, prostaglandin levels, and symptoms after administration of AVP at doses that would produce the same plasma levels as those found in the dysmenorrheic women of the present study. Another interesting approach would be to test the possible therapeutic effect on dysmenorrhea of the recently developed inhibitors<sup>18</sup> that act competitively with AVP on myometrial activity.

References

1. Åkerlund M, Andersson K-E, Ingemarsson I: Effects of terbutaline on myometrial activity, uterine blood flow, and lower abdominal pain in women with primary dysmenorrhoea. *Br J Obstet Gynaecol* 83:673, 1976

2. Lundström V: The role of prostaglandins in primary dysmenorrhoea. Thesis, Karolinska Hospital, Stockholm, Sweden, 1977

3. Åkerlund M: Pathophysiology of dysmenorrhoea. *Acta Obstet Gynecol Scand Suppl* 87:27, 1979

4. Coutinho EM, Lopes ACV: Response of the nonpregnant uterus to vasopressin as an index of ovarian function. *Am J Obstet Gynecol* 102:479, 1968

5. Åkerlund M, Andersson K-E: Vasopressin response and terbutaline inhibition of the uterus. *Obstet Gynecol* 48:528, 1976

6. Åkerlund M, Strömberg P, Forsling ML: Primary dysmenorrhoea and vasopressin. *Br J Obstet Gynaecol* 86:484, 1979

7. Skowsky WR, Rosenbloom AA, Fisher DA: Radioimmunoassay measurement of arginine vasopressin in serum: Development and application. *J Clin Endocrinol Metab* 38:278, 1974

8. Lightman S, Forsling ML: Evidence for dopamine as an inhibitor of vasopressin release in man. *Clin Endocrinol* 12:39, 1980

9. Batra S, Sjöberg N-O, Thorbert G: Estrogen and progesterone interactions in the rabbit uterus *in vivo* after steroid administration. *Endocrinology* 102:268, 1978

10. Ludański T, Åkerlund M: Interaction of vasopressin and prostaglandin on myometrial activity *in vivo* in the first trimester of human pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol* 87:132, 1980

11. Ludański T, Åkerlund M, Batra S: Differences in the effects of vasopressin and oxytocin on rabbit myometrial activity and a possible mediation of prostaglandins. *J Reprod Fertil* 51:355, 1977

12. Lundström V, Gréen K, Svanborg K: Endogenous prostaglandins in dysmenorrhea and the effect of prostaglandin synthetase inhibitors (PGS) on uterine contractility. *Acta Obstet Gynecol Scand Suppl* 87:51, 1979

13. Ylikorkala O, Puolakka J, Kaupila A: Serum gonadotrophins, prolactin and ovarian steroids in primary dysmenorrhoea. *Br J Obstet Gynaecol* 86:648, 1979

14. Skowsky WR, Swan L, Smith P: Effects of sex steroid hormones on arginine-vasopressin in intact and castrated male and female rats. *Endocrinology* 104:105, 1979

15. Forsling ML, Åkerlund M, Strömberg P: Variation in plasma concentrations of vasopressin during the menstrual cycle. *J Endocrinol*, in press

16. Fuchs AR, Coutinho EM: Suppression of uterine activity during menstruation by expansion of the plasma volume. *Acta Endocrinol* 66:183, 1971

17. Cobo E, Cifuentes R, De Villamizar M: Inhibition of menstrual uterine motility during water diuresis. *Am J Obstet Gynecol* 132:313, 1978

18. Melin P, Vilhardt H, Lindberg G, et al: Inhibitory effect of O-alkylated analogues of oxytocin and vasopressin on human and myometrial activity. *J Endocrinol* 88:173, 1981

Address reprint requests to:  
Per Strömberg, MD  
Department of Obstetrics and Gynecology  
University Hospital  
S-221 85 Lund, Sweden

Accepted for publication January 23, 1981.

Copyright © 1981 by The American College of Obstetricians and Gynecologists.



## VARIATIONS IN PLASMA CONCENTRATIONS OF VASOPRESSIN DURING THE MENSTRUAL CYCLE

MARY L. FORSLING, M. ÅKERLUND\* AND P. STRÖMBERG\*

*Department of Physiology, The Middlesex Hospital Medical School, Cleveland Street,  
London, W1P 6DB and \*Department of Obstetrics and Gynaecology, University Hospital,  
221 85 Lund, Sweden*

(Received 4 August 1980)

### SUMMARY

Plasma vasopressin concentrations, determined by radioimmunoassay, were followed throughout the menstrual cycle in eight healthy women. The concentrations were found to depend on the day of the menstrual cycle. The mean concentration on day 1 was  $0.5 \pm 0.08$  (S.E.M.)  $\mu\text{u./ml}$ , while that on days 16–18 was  $1.1 \pm 0.16 \mu\text{u./ml}$ . These values were significantly ( $P < 0.02$ ) different. Vasopressin release in women may thus depend on the hormonal changes during the menstrual cycle.

### INTRODUCTION

Recently Åkerlund, Strömberg & Forsling (1979), investigating the hormonal changes in primary dysmenorrhoea, noted that plasma vasopressin concentrations in the control group of women were significantly higher on days 5–7 than on day 1 of the menstrual cycle. It is a common belief that fluid retention occurring during the menstrual cycle could result from changes in the concentrations of ovarian steroids in the circulation, but it is possible that vasopressin might also be a contributory factor. There is, however, relatively little data available. Miller & Wilks (1973), considering excretion of vasopressin in the monkey, found little change during the menstrual cycle. On the other hand, Skowsky, Swan & Smith (1979) presented data to suggest that oestrogen stimulated the secretion of vasopressin in the rat. The present investigation was undertaken to determine the changes in plasma vasopressin concentration throughout the menstrual cycle in gynaecologically healthy women.

### METHODS

Eight healthy women (aged 23–33 years) with no menstrual pains or signs of gynaecological or general disease participated in the study. All had regular menstrual cycles and were non-parous. No medication was taken during the period of study and none used an intrauterine device.

Venous blood samples were taken between 08.00 and 10.00 h on the first day of the menstrual cycle and throughout the cycle on every second to fourth day. The plasma was stored at  $-20^\circ\text{C}$  until assay by radioimmunoassay as described by Lightman & Forsling (1980).

Additional blood samples were obtained on each sampling occasion for the radioimmunoassay of plasma concentrations of oestradiol and progesterone (Batra, Sjöberg & Thorbert, 1978) and for the estimation of osmolality, sodium, haemoglobin and haematocrit.

Specimens of morning urine were obtained on each day of sampling and the osmolality and density were analysed. The body weight and the systemic blood pressure were measured

under standardized conditions at the beginning and at the end of the sampling period.

The observations were normally distributed, so that comparison of data was performed using Student's *t*-test.

### RESULTS

Plasma vasopressin concentrations in all the non-pregnant subjects studied lay between 0.3 and 1.5  $\mu\text{u./ml}$  throughout the menstrual cycle. The values were subject to some daily variation but an overall trend was seen with the concentrations of vasopressin being lowest at the time of onset of menstruation and highest at the time of ovulation as judged by the concentrations of progesterone and oestradiol. The mean  $\pm$  S.E.M. concentration on day 1 was  $0.5 \pm 0.08$   $\mu\text{u./ml}$  while that on days 16–18 was  $1.1 \pm 0.16$   $\mu\text{u./ml}$ ; these values were significantly ( $P < 0.02$ ) different. The values on days 4–6, 12–14 and 24–26 were  $0.9 \pm 0.13$ ,  $0.9 \pm 0.11$  and  $0.8 \pm 0.10$   $\mu\text{u./ml}$  respectively and were all significantly different from that on day 1 (for the three groups  $P < 0.05$ ,  $< 0.025$ ,  $< 0.05$ ). Although vasopressin concentrations were lowest at the beginning of the cycle when oestrogen and progesterone concentrations were at their lowest there was no point-to-point correlation of vasopressin with either progesterone or oestrogen throughout the cycle. An example of the pattern of release and its relationship to plasma progesterone and oestradiol concentrations is given in Fig. 1. In one subject who became pregnant the concentrations remained raised after ovulation, at 2.1  $\mu\text{u./ml}$  on days 25–28. Haematocrit, haemoglobin concentrations and sodium concentrations lay within the normal range in all subjects studied. No change in plasma osmolality was seen during the cycle. The ratio of urine to plasma osmolality was not correlated with vasopressin over the time-period studied, but vasopressin is not the only factor influencing urine concentration. Throughout the period of sampling body weight did not vary by more than 0.6 kg in any of the women and no significant changes occurred in the systemic blood pressure.

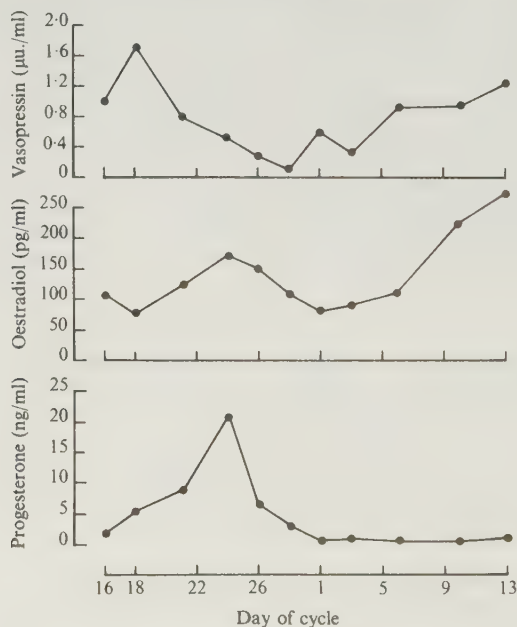


Fig. 1. Plasma concentrations of vasopressin, oestradiol and progesterone in a healthy woman with a 29 day menstrual cycle.

## DISCUSSION

The present studies showed that there are changes in plasma vasopressin concentrations throughout the menstrual cycle, the highest values being seen at the time of ovulation and the lowest at menstruation. High concentrations of vasopressin were also seen in one subject who conceived during the cycle studied. While the variations in plasma vasopressin could represent altered metabolic clearance of the hormone, it probably reflects changes in the rate of secretion. These results are in contrast with those of Miller & Wilks (1973) who found no alteration in the urinary excretion of vasopressin during the menstrual cycle in the rhesus monkey. These authors employed 24 h urine collections and grouped the data from days 5 to 10 and from days 15 to 24, so that it is possible that any changes which might have occurred could have been masked. However, Falconer, Mitchell, Mountford & Robinson (1980) have recently shown that oxytocin concentrations are significantly higher in mid-cycle (days 10–11) in the rhesus monkey than on day 1 so it would appear that the release of the two hormones is similarly affected. Falconer *et al.* (1980) were unable to find significant correlations between oxytocin and oestradiol or progesterone, but nevertheless suggested that the mid-cycle oestrogen may stimulate the production of oxytocin.

Variations in the pattern of secretion of vasopressin could result from changes in the concentrations of oestrogen and progesterone in the circulation. It has been demonstrated that oestrogen and progesterone can modify the release of oxytocin after vaginal distension in the ewe and goat (Roberts & Share, 1969; Roberts, 1975). Forsling, Taverne, Parvizi, Elsaesser, Smidt & Ellendorff (1979) have also shown that oxytocin release during parturition in the pig only commences when the progesterone concentrations have fallen to less than 10 ng/ml plasma. Should vasopressin release be similarly affected, then the changing oestrogen concentrations might be stimulatory in the proliferative phase and the changing progesterone concentrations inhibitory during the luteal phase of the cycle. From the studies of Crowley, O'Donohue, George & Jacobowitz (1978) on the effect of injections of ovarian hormones on the pituitary hormone content in rats, it appears that both oestrogen and progesterone are inhibitory after priming doses of oestrogen. In contrast are the recent studies of Skowsky *et al.* (1979) who made direct estimates of plasma vasopressin levels in intact female and castrated rats after treatment with sex steroid hormones. Their results indicated that oestrogen increased plasma vasopressin concentrations.

Although in the present studies on women the vasopressin concentrations in the daily samples were correlated neither with oestrogen nor progesterone, looking at the longer-term changes, vasopressin concentrations were highest after the preovulatory rise in oestradiol and lowest on day 1 when oestradiol and progesterone concentrations were both low. It may probably be too simplistic to expect correlation of vasopressin with concurrent steroid concentrations in plasma as vasopressin release may depend on the changing background of steroid hormones or on the tissue concentration.

It is possible that the increased vasopressin secretion at the time of ovulation has some physiological significance. Vasopressin acts on the uterus in several species (Heller, 1973) and the work of Fuchs & Coutinho (1971) suggests that vasopressin is a physiological stimulator of uterine contractions.

It is of interest that the lowest plasma vasopressin concentrations were seen at a time when the uterine muscle and blood vessels are most sensitive to vasopressin (Åkerlund & Andersson, 1976). In women with primary dysmenorrhoea who have increased uterine activity and a decreased blood flow in the uterus (Åkerlund, Andersson & Ingemarsson, 1976) we have recently found increased concentrations of vasopressin (Åkerlund *et al.* 1979).

## REFERENCES

- Åkerlund, M. & Andersson, K.-E. (1976). Vasopressin response and terbutaline inhibition of the uterus. *Obstetrics and Gynecology* **48**, 528–536.

- Åkerlund, M., Andersson, K.-E. & Ingemarsson (1976). I. Effects of terbutaline on myometrial activity, uterine blood flow and lower abdominal pain in women with primary dysmenorrhoea. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology* **83**, 673–678.
- Åkerlund, M., Strömberg, P. & Forsling, M. L. (1979). Primary dysmenorrhoea and vasopressin. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology* **86**, 484–487.
- Batra, S., Sjöberg, N. O. & Thorbert, G. (1978). Estrogen and progesterone interactions in the rabbit uterus *in vivo* after steroid administration. *Endocrinology* **102**, 268–272.
- Crowley, W. R., O'Donohue, T. L., George, J. M. & Jacobowitz, O. M. (1978). Changes in pituitary oxytocin and vasopressin during the estrous cycle and after ovarian hormones, evidence for mediation by norepinephrine. *Life Sciences* **23**, 2579–2585.
- Falconer, J., Mitchell, M. D., Mountford, L. A. & Robinson, J. S. (1980). Plasma oxytocin concentrations during the menstrual cycle in the rhesus monkey, *Macaca mulatta*. *Journal of Reproduction and Fertility* **59**, 69–72.
- Forsling, M. L., Taverne, M. A. M., Parvizi, N., Elsaesser, F., Smidt, D. & Ellendorff, F. (1979). Plasma oxytocin and steroid concentrations during late pregnancy, parturition and lactation in the miniature pig. *Journal of Endocrinology* **82**, 61–69.
- Fuchs, A. R. & Coutinho, E. M. (1971). Suppression of uterine-activity during menstruation by expansion of plasma volume. *Acta Endocrinologica* **66**, 183–192.
- Heller, H. (1973). The effects of oxytocin and vasopressin during the oestrous cycle and pregnancy on the uterus of the marsupial species, the quokka (*Setonix brachyurus*). *Journal of Endocrinology* **58**, 657–671.
- Lightman, S. & Forsling, M. L. (1980). Evidence for dopamine as an inhibitor of vasopressin release in man. *Clinical Endocrinology* **12**, 39–46.
- Miller, M. & Wilks, J. W. (1973). Urinary antidiuretic hormone excretion during the menstrual cycle and pregnancy in the monkey. *Neuroendocrinology* **12**, 174–178.
- Roberts, J. S. (1975). Cyclical oxytocin release during the estrous cycle of the goat. *Biology of Reproduction* **13**, 314–317.
- Roberts, J. S. & Share, L. (1969). Effects of progesterone and oestrogen on blood levels of oxytocin during vaginal distention. *Endocrinology* **84**, 1076–1081.
- Skowsky, W. R., Swan, L. & Smith, P. (1979). Effects of sex steroid hormones on arginine vasopressin in intact and castrated male and female rats. *Endocrinology* **104**, 105–108.

## Effect of ovarian steroids on vasopressin secretion

Mary L. Forsling, P. Strömberg\* and M. Åkerlund\*

*Department of Physiology, The Middlesex Hospital Medical School, Cleveland Street, London, W1P 6DB and \*Department of Obstetrics and Gynaecology, University Hospital, S-221 85 Lund, Sweden*

(Received 25 February 1982)

---

### SUMMARY

In normally menstruating women plasma vasopressin concentrations vary with the stage of the cycle and are highest at the time of ovulation and lowest at the onset of menstruation. To determine whether this is the result of changes in the circulating concentrations of ovarian steroids, vasopressin concentrations were determined in six postmenopausal women given oestrogen and progestogen. An increase in plasma oestradiol concentrations to  $299 \pm 97.8$  pmol/l augmented vasopressin release. Administration of medroxyprogesterone did not influence vasopressin concentrations but when given in combination with oestrogen a fall was observed. Thus it appears that ovarian steroids can modulate vasopressin release.

---

### INTRODUCTION

The secretion of vasopressin varies during the normal menstrual cycle with the highest plasma concentrations around the time of ovulation and the lowest at the onset of menstruation (Forsling, Åkerlund & Strömberg, 1981). These variations could result from changes in the concentrations of oestrogen and progesterone. It has previously been shown in animal experiments that the administration of oestrogen increases serum vasopressin levels (Skowsky, Swan & Smith, 1979). Forsling, Taverne, Parvizi, Elsaesser, Smidt & Ellendorff (1979) demonstrated that oxytocin release during parturition in the pig only commences when progesterone concentrations have fallen to less than 10 ng/ml plasma. In order to clarify the effect of sex steroid hormones on vasopressin secretion in women, hormone concentrations were measured in postmenopausal women receiving oestrogen and progestogen.

### MATERIALS AND METHODS

Six healthy postmenopausal women participated in the study. Their ages ranged from 50–60 years (mean 54.6) and 2–11 years (mean 5.3) had elapsed since their last menstrual bleeding. They were well informed as to the nature and purpose of the investigation and gave written consent to their participation, the project having been approved by the local ethical committee.

The drugs used were oestradiol valerate (Progynon, Schering Ag, Berlin, Germany) in a dose of 2 mg daily and medroxyprogesterone acetate (Gestapuran, Lövens Läkemedel, Malmö, Sweden) in a dose of 10 mg daily. Initially oestrogen was given for 5 days followed by a break in drug administration of 9 days. Progestogen was then given for 5 days followed by a further break of 9 days. Finally oestrogen was administered for 10 days and after 5 days of this treatment progestogen was added. The women were monitored with plasma sampling over a 6-week period so that in total 16 samples were taken; the timing in relation to the hormone administration is indicated in Fig. 1.

The steroids were taken between 07.00 and 08.00 h and the plasma samples obtained 1–3 h later. The women had a normal breakfast but refrained from smoking. Plasma samples for radioimmunoassay of arginine-vasopressin (Lightman & Forsling, 1980) were taken in chilled tubes, centrifuged immediately and stored at  $-20^{\circ}\text{C}$ . Additional blood samples were taken on each sampling occasion for the radioimmunoassay of plasma concentrations of oestradiol and progesterone (Batra, Sjöberg & Thorbert, 1978), medroxyprogesterone (Jeppsson & Johansson, 1976), prolactin, follicle-stimulating hormone (FSH) and luteinizing hormone (LH). Plasma osmolality was also measured in the samples.

The observations were normally distributed so the data was compared using Student's *t*-test.

### RESULTS

The plasma concentrations of vasopressin, oestradiol and medroxyprogesterone throughout the sampling period are shown in Fig. 1. The plasma levels of oestradiol rose during hormone treatment from a mean of 72 pmol/l (range 50–90) up to a mean of 313 pmol/l (range 130–522). Medroxyprogesterone rose to a mean of 4.0 nmol/l (range 1.8–6.3). After 3 days of oestrogen treatment the vasopressin levels had risen to three times the initial values and they remained significantly ( $P < 0.0125$ ) raised 3 days after stopping the oestrogen treatment. Medroxyprogesterone itself had no significant effect on vasopressin levels, although in three of the patients who still had high levels at the start of therapy, the

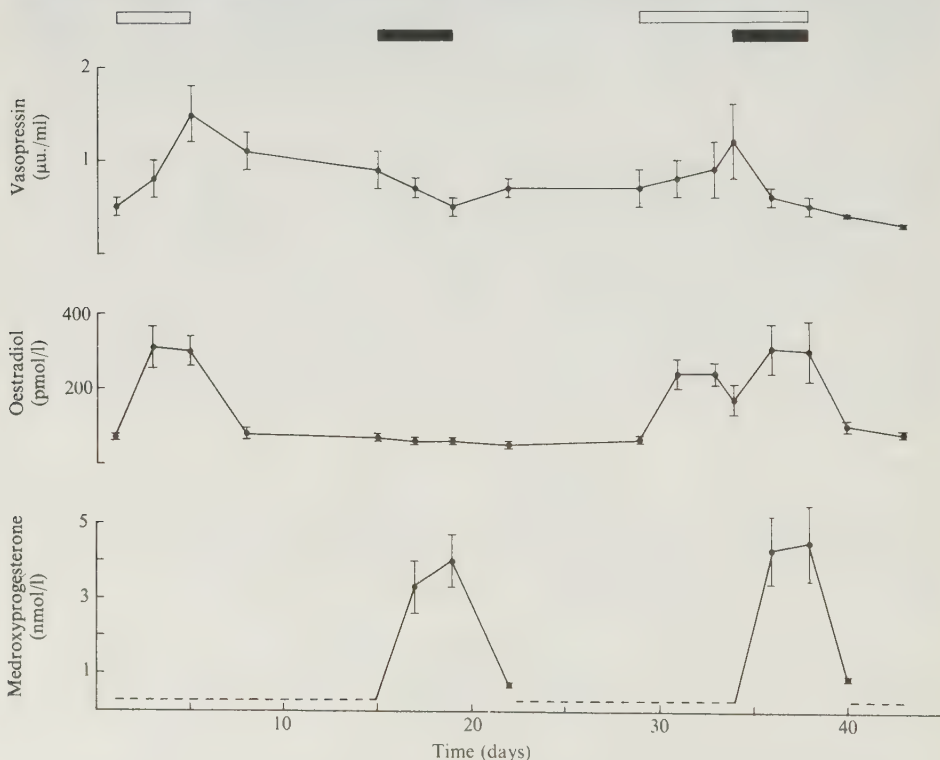


Fig. 1. Mean plasma concentrations ( $\pm$ S.E.M.) of vasopressin, oestradiol and medroxyprogesterone in women during treatment with 2 mg oestradiol valerate per day (open bar) and 10 mg medroxyprogesterone acetate per day (solid bar).

Table 1. Prolactin, FSH and LH concentrations in women on various days during treatment with oestrogen and progestogen. Values are means  $\pm$  S.E.M.

| Day ...<br>Concentration<br>( $\mu$ g/l) | Oestrogen          |                    |                    |                    |  | Oestrogen          |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                              |                             |                              |
|------------------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|------------------------------|-----------------------------|------------------------------|
|                                          | 1                  | 3                  | 5                  | 8                  |  | Progestogen        |                    |                    |                    |                    | Progestogen        |                    |                              |                             |                              |
|                                          |                    |                    |                    |                    |  | 15                 | 17                 | 19                 | 22                 | 29                 | 31                 | 33                 | 34                           | 36                          | 38                           |
| Prolactin                                | 3.5 $\pm$<br>1.49  | 4.7 $\pm$<br>1.06  | 4.5 $\pm$<br>0.8   | 3.7 $\pm$<br>0.87  |  | 4.3 $\pm$<br>0.94  | 4.8 $\pm$<br>0.91  | 4.2 $\pm$<br>1.01  | 4.4 $\pm$<br>1.06  | 4.3 $\pm$<br>0.87  | 5.3 $\pm$<br>0.95  | 4.9 $\pm$<br>1.0   | 5.5 $\pm$<br>1.14            | 5.1 $\pm$<br>0.55           | 5.9 $\pm$<br>1.17            |
| FSH                                      | 14.7 $\pm$<br>0.79 | 13.7 $\pm$<br>1.06 | 11.7 $\pm$<br>1.02 | 11.9 $\pm$<br>0.48 |  | 12.7 $\pm$<br>0.88 | 12.8 $\pm$<br>0.64 | 13.5 $\pm$<br>0.76 | 13.3 $\pm$<br>0.82 | 13.6 $\pm$<br>0.88 | 11.9 $\pm$<br>1.14 | 11.7 $\pm$<br>0.97 | 10.5 $\pm$<br>0.78 $\dagger$ | 11.1 $\pm$<br>0.90          | 10.3 $\pm$<br>0.12 $\dagger$ |
| LH                                       | 6.4 $\pm$<br>0.24  | 6.0 $\pm$<br>0.12  | 4.5 $\pm$<br>0.56* | 5.1 $\pm$<br>0.44* |  | 5.4 $\pm$<br>0.47  | 5.7 $\pm$<br>0.48  | 6.2 $\pm$<br>0.44  | 5.8 $\pm$<br>0.11  | 5.8 $\pm$<br>0.1   | 5.1 $\pm$<br>0.36  | 6.3 $\pm$<br>0.51  | 4.8 $\pm$<br>0.12 $\dagger$  | 4.9 $\pm$<br>0.24 $\dagger$ | 3.9 $\pm$<br>0.15 $\dagger$  |

\*  $P < 0.05$  compared with day 1;  $\dagger P < 0.05$  compared with day 29. No significant changes occurred during treatment with progestogen alone.

concentrations returned to normal in the next sample, taken after 2 days. When medroxyprogesterone was added to the oestradiol, treatment produced a gradual decrease in plasma vasopressin. Thus, the oestrogen-stimulated increases in vasopressin concentration in samples 11 and 12 were significantly decreased in samples 14 ( $P < 0.05$ ) and 16 ( $P < 0.125$ ).

The oestrogen treatment decreased plasma concentrations of gonadotrophins and caused an increase in prolactin concentrations (Table 1). Plasma osmolality remained within normal levels and unchanged throughout.

#### DISCUSSION

The present results indicated that oestradiol valerate had a stimulatory effect on vasopressin release in postmenopausal women. Medroxyprogesterone alone had no effect, but counteracted the oestradiol-induced increase in vasopressin secretion. The possibility that the observed changes in vasopressin concentrations were in part due to altered clearance cannot of course be totally excluded. As expected, FSH and LH levels, which originally were high in these postmenopausal women, decreased during oestradiol treatment.

The levels of oestradiol in plasma achieved by the regime used in this study were well within the range seen during the normal menstrual cycle. Of the oral progestogens available for clinical study today, medroxyprogesterone is probably the most similar to naturally occurring progesterone; the circulating levels obtained were similar to those of progesterone occurring during the normal menstrual cycle.

In some cases the vasopressin concentrations were raised up to 7 days after stopping oestradiol treatment, by which time the plasma levels of oestradiol had decreased to normal postmenopausal values. The long duration of the oestradiol effect, despite the low circulating levels, can probably be explained in terms of retention of oestradiol in the tissue. A time-lag has been found between decrease in plasma and tissue concentrations in the myometrium (Åkerlund, Batra & Helm, 1981).

The present results might have some relevance with respect to the aetiology and therapy of primary dysmenorrhoea, and also to the premenstrual tension syndrome. A substantial increase in circulating vasopressin was found in women with primary dysmenorrhoea, which probably contributes to the increased uterine activity, decrease in uterine blood flow and pain associated with this condition (Åkerlund, Strömberg & Forsling, 1979; Strömberg, Forsling & Åkerlund, 1981). It has also been reported (Ylikorkala, Puolakka & Kauppila, 1979) that in a group of dysmenorrhoeic patients the plasma oestradiol concentrations in the mid-luteal phase were significantly higher than in the control group. Treatment with progestogens, e.g. dydrogesterone, is effective in primary dysmenorrhoea without suppression of ovulation (Bell & Loraine, 1965). This could be related to the depressing effect of progestogens on vasopressin secretion.

Increased release of vasopressin might possibly contribute to the symptoms of the premenstrual tension syndrome, which include water retention and mood changes. Although the concentrations of vasopressin observed lie within the normal range for healthy male subjects, only small changes in concentration are required to produce renal effects. This syndrome is common late in reproductive life, when ovulatory insufficiency and a short luteal phase become more frequent, although whether a genuine progesterone deficiency is the causative agent is still under debate (O'Brien, Selby & Symonds, 1980). However, some investigators at least have reported that progestogens (dydrogesterone) are of therapeutic value in this condition (Kerr, Day, Munday, Brush, Watson & Taylor, 1980). In view of the present data one could speculate that they produce their effect by counteracting the increased vasopressin release caused by imbalanced oestrogen secretion.

This study was supported by Ferring A. B. and Lövens Läkemedel, Malmö, Sweden, the Swedish Medical Research Council (grant no. B83-17X-06571-01) and the University of Lund, Sweden. We are grateful to Professor E. D. B. Johansson, Uppsala, Sweden for performing the assay of medroxyprogesterone acetate.

## REFERENCES

- Åkerlund, M., Batra, S. & Helm, G. (1981). Comparison of plasma and myometrial tissue concentrations of estradiol-17 $\beta$  and progesterone in nonpregnant women. *Contraception* **23**, 447–455.
- Åkerlund, M., Strömberg, P. & Forsling, M. L. (1979). Primary dysmenorrhoea and vasopressin. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology* **86**, 484–487.
- Batra, S., Sjöberg, N.-O. & Thorbert, G. (1978). Estrogen and progesterone interactions in the rabbit uterus *in vivo* after steroid administration. *Endocrinology* **102**, 268–272.
- Bell, E. T. & Loraine, J. A. (1965). Effect of dydrogesterone on hormone excretion in patients with dysmenorrhoea. *Lancet* **i**, 403–407.
- Forsling, M. L., Åkerlund, M. & Strömberg, P. (1981). Variations in plasma concentrations of vasopressin during the menstrual cycle. *Journal of Endocrinology* **89**, 263–266.
- Forsling, M. L., Taverne, M. A. M., Parvizi, N., Elsaesser, F., Smidt, D. & Ellendorff, F. (1979). Plasma oxytocin and steroid concentrations during late pregnancy, parturition and lactation in the miniature pig. *Journal of Endocrinology* **82**, 61–69.
- Jeppsson, S. & Johansson, E. D. B. (1976). Medroxyprogesterone acetate, estradiol, FSH and LH in peripheral blood after intramuscular administration of Depo-Provera<sup>R</sup> to women. *Contraception* **14**, 461–469.
- Kerr, G. D., Day, J. B., Munday, M. R., Brush, M. G., Watson, M. & Taylor, R. W. (1980). Dydrogesterone in the treatment of the premenstrual syndrome. *The Practitioner* **224**, 852–855.
- Lightman, S. & Forsling, M. L. (1980). Evidence for dopamine as an inhibitor of vasopressin release in man. *Clinical Endocrinology* **12**, 39–46.
- O'Brien, P. M. S., Selby, C. & Symonds, E. M. (1980). Progesterone, fluid, and electrolytes in premenstrual syndrome. *British Medical Journal* **280**, 1161–1163.
- Skowsky, W. R., Swan, L. & Smith, P. (1979). Effects of sex steroid hormones on arginine vasopressin in intact and castrated male and female rats. *Endocrinology* **104**, 105–108.
- Strömberg, P., Forsling, M. L. & Åkerlund, M. (1981). Effect of prostaglandin inhibition on vasopressin levels in women with primary dysmenorrhoea. *Obstetrics and Gynecology* **58**, 206–208.
- Ylikorkala, O., Puolakka, J. & Kauppila, A. (1979). Serum gonadotrophins, prolactin and ovarian steroids in primary dysmenorrhoea. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology* **86**, 648–653.



## Involvement of prostaglandins in vasopressin stimulation of the human uterus

P. STRÖMBERG *Medical Registrar & M. ÅKERLUND Associate Professor, Department of Obstetrics and Gynaecology, University Hospital, S-221 85 Lund, Sweden*

M. L. FORSLING *Senior Lecturer, Department of Physiology, Middlesex Hospital Medical School, Mortimer Street, London W1N 8AA*

H. KINDAHL *Associate Professor, Department of Obstetrics and Gynaecology, Swedish University of Agricultural Sciences, S-750 07 Uppsala, Sweden*

**Summary.** The involvement of prostaglandins (PG) in the vasopressin (VP) action on the human uterus was investigated in healthy women during three menstruations. Intrauterine pressure was recorded and total pressure area measured. Repeated plasma samples were taken for estimations of arginine(A)- and lysine(L)-VP, 15-keto-13,14-dihydro-PGF<sub>2α</sub> and 11-keto-tetranor PGF metabolites. During the first menstruation LVP was infused in a dose of 0.08 µg/min. During the second menstruation the infusion of LVP was repeated with the same dose, but 70 min before infusion the women received an oral dose of 500 mg of naproxen. During the third menstruation PGF<sub>2α</sub> was administered intravenously in a dose of 25 µg/min. LVP infusion *per se* caused a significant increase in uterine activity and plasma levels of LVP and PG metabolites. When the women were pretreated with naproxen practically the same uterine activity was induced and closely similar plasma levels of LVP were obtained, but the levels of PG metabolites decreased significantly in comparison with the first series of experiments. Infusion of PGF<sub>2α</sub> caused an increase in uterine activity but no change in the plasma levels of AVP. The results indicate that uterine stimulation with VP is possible without an obligatory last step of PG synthesis and release. The results also support the concept that an elevated VP level in primary dysmenorrhoea may be of aetiological importance and is not just released as a 'stress'-hormone because of the dysmenorrhoeic pain.

Many authors have ascribed a central role to prostaglandins (PG) in the development of myometrial hyperactivity in primary dysmenorrhoea, but the relations and possible interaction between PG and other uterine stimulants are not fully understood. It has been suggested that all other stimulants exert their action on the uterus by production or liberation of PG (Csapo & Csapo 1974), but in the pregnant uterus oxytocin has been shown to initiate contraction

by both a direct action on the myometrium and indirectly via decidual PG production (Fuchs *et al.* 1982).

At menstruation, vasopressin (VP) is a much stronger uterine stimulant than oxytocin and we have found an elevated plasma level of this hormone in dysmenorrhoeic women (Åkerlund *et al.* 1979; Strömberg *et al.* 1981). Uterine stimulation by VP in dysmenorrhoea may also involve PG synthesis and release, since VP levels remained elevated in dysmenorrhoeic women after pain relief had been obtained by treatment with an inhibitor of PG synthesis (Strömberg *et*

*al.* 1981). In the present study we have further investigated the involvement of PG in the VP action on the human uterus.

## Methods

Five gynaecologically healthy women with normal menstrual cycles participated in the study. The women had a parity of 2 or 3, their age ranged from 30 to 36 (mean 33) years and their body weight from 50 to 56 (mean 53) kg. They were well informed as to the purpose and procedure of the study and their consent was obtained. The study was approved by the local ethical committee.

Myometrial activity was recorded as changes in intrauterine pressure by a microtransducer catheter as previously described (Åkerlund *et al.* 1978). Under aseptic conditions the catheter (PC-350, Miller Instruments, Houston, Texas, USA) was introduced through the cervical canal and placed with its tip in the fundus of the uterus. The women were provided with indwelling venous catheters in both arms, one for the administration of drugs and one for obtaining blood samples.

All five women participated during two menstruations with recordings being performed on the first or second day of menstruation, but at the same time after onset of bleeding in each woman. Spontaneous uterine activity was recorded for at least 30 min before any drug was administered. During the first recording the women received a continuous infusion of lysine vasopressin (LVP; Postacton, Ferring AB, Sweden) in a dose of 0.08 µg/min through an infusion pump. During the second menstruation the women received naproxen (Naprosyn, Astra-Syntex, Sweden; 500 mg orally) at the beginning of the recording. After 70 min a LVP infusion was administered in the same dose as during the first menstruation.

In three instances recordings were also made during a third menstrual period. This time an infusion of PGF<sub>2α</sub> (Amoglandin, Recip, Sweden) was given in a dose of 25 µg/min.

During the recordings plasma samples were obtained for estimations of arginine vasopressin (AVP), LVP, 15-keto-13,14-dihydro-PGF<sub>2α</sub> and 11-keto-tetranor PGF metabolites. In the sample obtained at the start of each recording the plasma osmolality and the concentrations of oestradiol and progesterone were also measured. The samples for hormonal assays were taken in chilled

heparinized tubes, centrifuged immediately and the plasma deep frozen at -20°C until assay.

Estimations of AVP were performed in all plasma samples except in those obtained during LVP infusion, where this peptide instead was measured. The radioimmunoassay of AVP has been described in detail previously (Strömberg *et al.* 1981). LVP was assayed by essentially the same procedure, but a different antiserum was used which had a cross-reactivity with AVP of approx. 5%, although the dose-response curve was not exactly parallel to that of AVP. Synthetic LVP was used as standard and for preparation of the iodinated peptide.

The radioimmunoassay of 15-keto-13,14-dihydro-PGF<sub>2α</sub> has previously been described in detail (Granström & Kindahl 1976a). The radioimmunoassay of 11-keto-tetranor metabolites uses an antiserum developed against 5α,7α-dihydroxy-11-keto-tetranorprostan-1,16-dioic acid (Granström & Kindahl 1976b). The method has been modified for plasma analysis (Granström & Kindahl 1982).

The uterine activity was quantified by planimetric analyses of the recording curves (Miller *et al.* 1976) by using total pressure area per 10 min. Statistical comparison was performed by Student's *t*-test.

## Results

### *Effects of LVP infusion without pretreatment with naproxen*

The effect of LVP infusion *per se* on VP concentrations, total pressure area and levels of PG metabolites is shown in Fig. 1. The mean AVP concentration before infusion was 0.5 µ-units/ml (SEM 0.1), similar to that reported at the beginning of the menstrual cycle in another group of healthy subjects (Forsling *et al.* 1981). The LVP levels during infusion rose gradually to a mean of 36.4 µ-units/ml (SEM 8.4) after 70 min and 34.8 (SEM 8.0) after 100 min. During the infusion the women felt moderate dysmenorrhoea-like pains and in parallel to this an increase in uterine activity was recorded. Thus the total pressure area rose from a mean of 36.9 mmHg × 10 min (SEM 5.5) immediately before infusion to a maximum of 87.6 (SEM 6.5) after 10 min. The activity thereafter gradually decreased until 70 min after the start of the infusion (68.1, SEM 5.9) and then remained constant for the rest of the experiment (after 100 min 66.8, SEM 5.9).

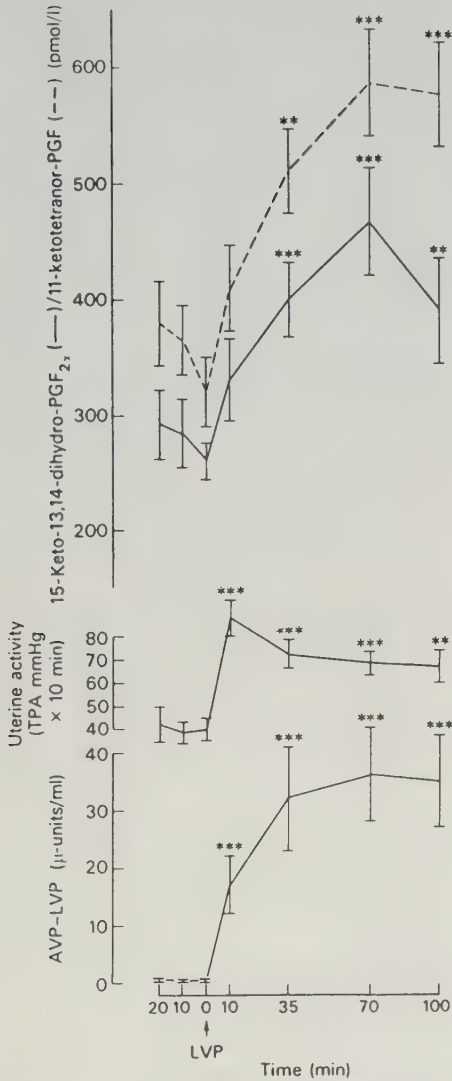


Fig. 1. Effect of lysine vasopressin (LVP) infusion on uterine activity measured as total pressure area (TPA) and on plasma levels of AVP-LVP, 15-keto-13,14-dihydro-PGF<sub>2α</sub> and 11-keto-tetranor-PGF metabolites. Experiments were performed in five women on cycle day 1 or 2. Significant differences as compared with observations immediately before LVP infusion are marked: \* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$ ; \*\*\* $P < 0.001$ .

The levels of 15-keto-13,14-dihydro-PGF<sub>2α</sub> which before LVP infusion were a mean of 260 pmol/l (SEM 15) rose to a maximum at 70 min of 468 (SEM 46) and decreased somewhat there-

after (Fig. 1). A rise in the plasma concentration of 11-keto-tetranor metabolites was also seen from a mean of 319 pmol/l (SEM 36) before infusion to a maximum of 589 (SEM 46) after 70 min.

#### *Effect of LVP infusion after pretreatment with naproxen*

When the women received naproxen followed by LVP infusion the plasma levels of VP were closely similar to those of the first series of experiments (Fig. 2). Thus before LVP infusion the AVP concentration was 0.7 μ-units/ml (SEM 0.1). During infusion LVP levels rose to a mean of 33.8 μ-units/ml (SEM 8.5) after 70 min and 35.8 (SEM 9.2) after 100 min. The uterine activity decreased somewhat, although not significantly over the first 70 min after administration of naproxen. When LVP was given, the women again reported dysmenorrhoea-like pains although less than during the first menstruation. The changes in uterine activity were closely similar to those in the first experiments. Immediately before infusion the total pressure area was 37.3 mmHg × 10 min (SEM 4.4) and after 10 min of infusion it has increased to 84.0 (SEM 4.3). Thereafter it decreased to 63.3 (SEM 5.6) after 70 min and 64.1 (SEM 7.4) after 100 min.

A clear difference as compared with the first series of experiments was seen in the levels of PG metabolites (Fig. 2). Before administration of naproxen the mean level of 15-keto-13,14-dihydro-PGF<sub>2α</sub> was 280 pmol/l (SEM 36), at the start of LVP infusion 190 (SEM 27) and by the end of the experiment 175 (SEM 27). The concentrations were significantly lower than in the first series without naproxen treatment in all four samples taken after the start of the LVP infusion (10 min,  $P < 0.01$ ; 35 min,  $P < 0.01$ ; 70 min,  $P < 0.001$ ; 100 min,  $P < 0.01$  respectively). The same pattern of events was seen for 11-keto-tetranor metabolites. Thus, before naproxen administration the mean plasma level of this metabolite was 393 pmol/l (SEM 59), immediately before LVP infusion it amounted to 259 (SEM 79) and after 100 min of infusion to 278 (SEM 45). The concentration of 11-keto-tetranor metabolites was also significantly lower in the four samples taken after the start of the LVP infusion than in the first series of experiments ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ,  $P < 0.001$  and  $P < 0.01$  respectively).

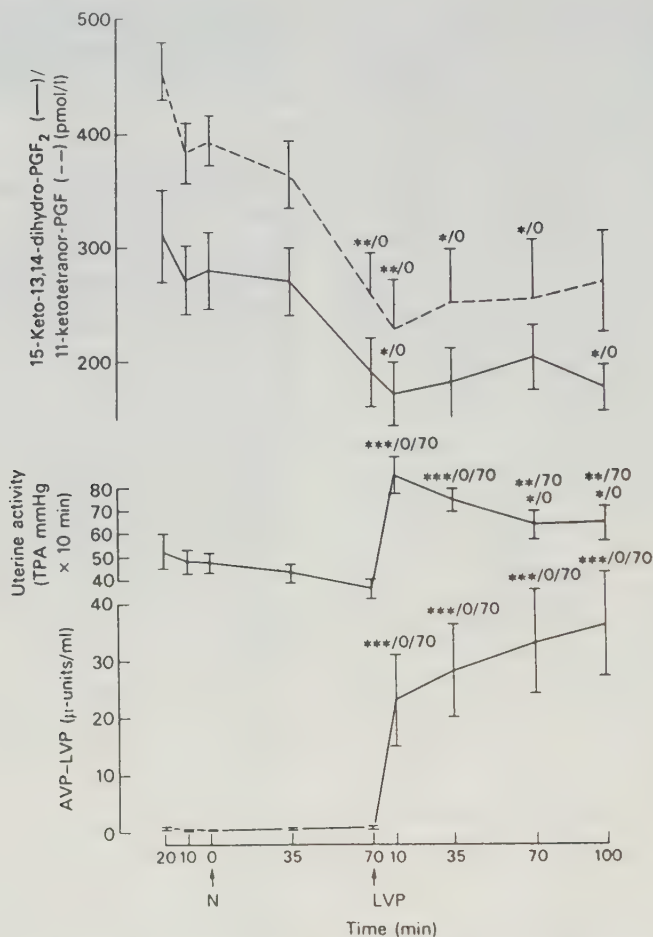


Fig. 2. Effect of lysine vasopressin (LVP) infusion after pretreatment with oral naproxen (N) on total pressure area (TPA) and on plasma levels of AVP-LVP, 15-keto-13,14-dihydro-PGF<sub>2α</sub> and 11-keto-tetranor-PGF metabolites. Experiments were performed in five women on cycle day 1 or 2. Significant differences as compared with observations immediately before administration of naproxen (/0) and with those before LVP infusion (/70) are indicated: \* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$ ; \*\*\* $P < 0.001$ .

### Effects of PG infusion

Infusion of PGF<sub>2α</sub> caused a gradual increase in uterine activity, slight to moderate dysmenorrhoeic pains and nausea. The total pressure area, which before infusion amounted to 37.7 (SEM 10.3) mmHg × 10 min rose to 66.9 (SEM 6.4) after 35 min and then remained at practically the same level for the rest of the infusion (Fig. 3). An immediate rise was seen in the plasma levels of PG metabolites, the values

being outside the range of the present assay technique. However, the AVP levels remained low and unchanged (Fig. 3).

Osmolality and plasma concentrations of ovarian steroids were within normal limits throughout and did not differ significantly between the three recording sessions.

### Discussion

LVP infusion *per se* caused an immediate and

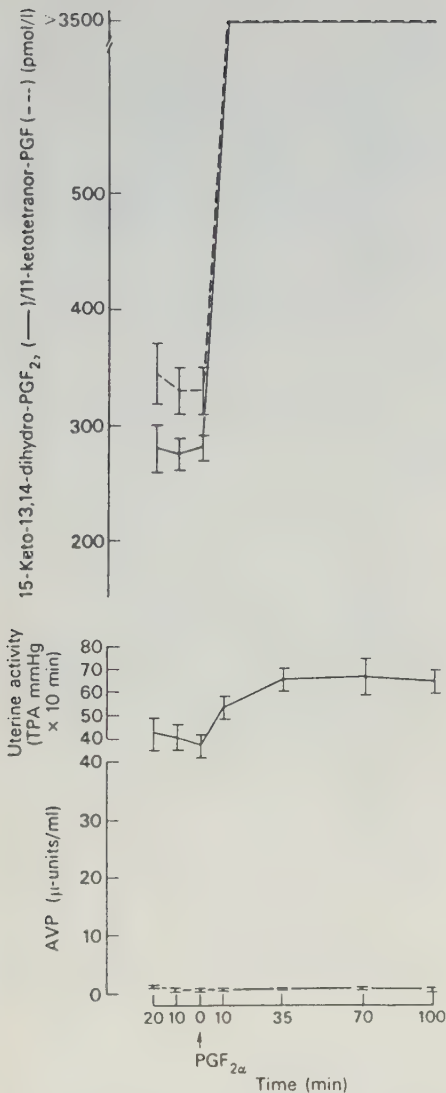


Fig. 3. Effect of PGF<sub>2α</sub> infusion on total pressure area (TPA) and on plasma levels of arginine vasopressin (AVP), 15-keto-13,14-dihydro-PGF<sub>2α</sub> and 11-keto-tetranor PGF metabolites. Experiments were performed in three women on cycle day 1.

marked stimulation of uterine activity and also increased PG synthesis as was demonstrated by a significant rise in the plasma level of PG metabolites. The effect of LVP infusion on uterine activity was closely similar after pretreatment with an inhibitor of prostaglandin synthesis, although the levels of PG metabolites were significantly lower than before and did not increase during the infusion.

It has been shown in the pregnant human uterus *in vitro* that the other posterior pituitary hormone oxytocin binds to oxytocin receptors in the decidua, where it has the primary function of stimulating PG production (Fuchs *et al.* 1982). These receptors occur in high concentration at term pregnancy. *In vivo* it was shown that oxytocin stimulates PG production as reflected by an increase in the plasma level of 15-keto-13,14-dihydro-PGF<sub>2α</sub>, and that this rise was independent of the contractile activity elicited by oxytocin (Husslein *et al.* 1981). The myometrium at term also has a high oxytocin receptor concentration, probably related only to the contractile effect of this neurohypophyseal peptide (Fuchs *et al.* 1981). The present results suggest that the interaction between VP and PG production in the non-pregnant uterus could be similar. The direct myometrial effects of VP do not require involvement of PG production, but VP induces PG production primarily in the endometrium, which has a high capacity for PG synthesis. This endometrial synthesis of PG could be the result of an influence of VP both directly on the endometrium as well as indirectly by increased contractions and decreased endometrial blood flow causing tissue damage (Åkerlund & Andersson 1976).

In primary dysmenorrhoea increased plasma levels of both VP and PG metabolites have been previously demonstrated as well as increased endometrial synthesis of PG (Lundström & Gréen 1978; Åkerlund *et al.* 1979; Strömberg *et al.* 1981). The increased uterine activity, decreased blood flow and pain in this condition (Åkerlund *et al.* 1976) could be caused by a combination of VP and PG. These two substances can have a synergistic action on the myometrium as was previously demonstrated in the early pregnant human uterus (Laudanski & Åkerlund 1980). Inhibitors of PG synthesis have a therapeutic effect in women with primary dysmenorrhoea and elevated VP levels, and this could be due to elimination of the uterine stimulation caused by the PG component. However, it is a common finding in studies of the effectiveness of PG synthesis inhibitors in primary dysmenorrhoea, that complete pain relief is difficult to achieve in all patients (Ylikorkala & Dawood 1978). The residual pain might be due to increased uterine activity and reduced blood flow caused by direct effects of VP on myometrium and uterine vessels.

The results of the present study also further

support the concept that VP may be of primary aetiological importance in dysmenorrhoea and is not just released as a stress hormone because of dysmenorrhoeic pain. During the infusion of PGF<sub>2α</sub> in the present study, which caused increased uterine activity and dysmenorrhoea-like pain, the VP level in plasma remained low and unchanged.

#### Acknowledgments

This study was supported by Ferring AB, the Swedish Medical Research Council (grant number B83-17X-06571-01) and the University of Lund, Sweden.

#### References

- Åkerlund, M. & Andersson, K.-E. (1976) Vasopressin response to terbutaline inhibition of the uterus. *Obstet Gynecol* **48**, 528-536.
- Åkerlund, M., Andersson, K.-E. & Ingemarsson, I. (1976) Effects of terbutaline on myometrial activity, uterine blood flow, and lower abdominal pain in women with primary dysmenorrhoea. *Br J Obstet Gynaecol* **83**, 673-678.
- Åkerlund, M., Bengtsson, L. Ph. & Ulmsten, U. (1978) Recording of myometrial activity in non-pregnant human uterus by a microtransducer catheter. *Acta Obstet Gynecol Scand* **57**, 429-433.
- Åkerlund, M., Strömberg, P. & Forsling, M. L. (1979) Primary dysmenorrhoea in vasopressin. *Br J Obstet Gynecol* **86**, 484-487.
- Csapo, A. I. & Csapo, E. E. (1974) The 'prostaglandin step', a bottle neck in the activation of the uterus. *Life Sci* **14**, 719-724.
- Forsling, M. L., Åkerlund, M. & Strömberg, P. (1981) Variations in plasma concentrations of vasopressin during the menstrual cycle. *J Endocrinol* **89**, 263-266.
- Fuchs, A.-R., Husslein, P. & Fuchs, F. (1981) Oxytocin and the initiation of human parturition. II. Stimulation of prostaglandin production in human decidua by oxytocin. *Am J Obstet Gynecol* **141**, 694-697.
- Fuchs, A.-R., Fuchs, F., Husslein, P., Soloff, M. S. & Fernström, N. J. (1982) Oxytocin receptors and human parturition: a dual role for oxytocin in the initiation of labor. *Sci* **215**, 1396-1398.
- Granström, E. & Kindahl, H. (1976a) Radioimmunoassay for Prostaglandin Metabolites. In *Advances in Prostaglandin and Thromboxane Research* (Samuelson, B. & Paoletti, R., Eds), Raven Press, New York.
- Granström, E. & Kindahl, H. (1976b) Radioimmunoassay for urinary metabolites of prostaglandins F<sub>2α</sub>. *Prostaglandins* **12**, 759-783.
- Granström, E. & Kindahl, H. (1982) Radioimmunoassay of 5α,7α-dihydroxy-11-ketotetranorpropane-1,16-dioic acid, a major prostaglandin F metabolite in blood and urine. *Methods Enzymol* **86**, 339-353.
- Husslein, P., Fuchs, A.-R. & Fuchs, F. (1981) Oxytocin and the initiation of human parturition. I. Prostaglandin release during induction of labor by oxytocin. *Am J Obstet Gynecol* **141**, 688-693.
- Laudanski, T. & Åkerlund, M. (1980) Interaction of vasopressin and prostaglandin on myometrial activity *in vivo* in the first trimester of human pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol* **87**, 132-138.
- Lundström, V. & Gréen, K. (1978) Endogenous levels of prostaglandin F<sub>2α</sub> and its main metabolite in plasma and endometrium of normal and dysmenorrhoeic women. *Am J Obstet Gynecol* **130**, 640-646.
- Miller, F. C., Yeh Sze-Ya, Schiffrin, B., Paul, R. & Hon, E. (1976) Quantification of uterine activity in 100 primiparous patients. *Am J Obstet Gynecol* **124**, 398-405.
- Strömberg, P., Forsling, M. L. & Åkerlund, M. (1981) Effect of prostaglandin inhibition on vasopressin levels in women with primary dysmenorrhoea. *Obstet Gynecol* **58**, 206-208.
- Ylikorkala, O. & Dawood, M. Y. (1978) New concepts in dysmenorrhoea. *Am J Obstet Gynecol* **130**, 833-846.

Received 30 August 1982

Accepted 20 October 1982

VASOPRESSIN AND PROSTAGLANDINS IN PREMENSTRUAL PAIN AND PRIMARY  
DYSMENORRHEA

P. Strömberg<sup>1</sup>, M. Åkerlund<sup>1</sup>, M.L. Forsling<sup>2</sup>, E. Granström<sup>3</sup> and  
H. Kindahl<sup>4</sup>

*From <sup>1</sup>the Department of Obstetrics and Gynecology, University Hospital, Lund, Sweden, <sup>2</sup>the Department of Physiology, Middlesex Hospital Medical School, London, England, <sup>3</sup>the Department of Physiological Chemistry, Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden, and <sup>4</sup>the Department of Obstetrics and Gynaecology, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden*

## ABSTRACT

Both vasopressin and  $\text{PGF}_{2\alpha}$  are effective uterine stimulants in the non-pregnant human uterus, especially around the onset of menstruation. In order to clarify the relationship of these hormones to menstrual pain, plasma concentrations of vasopressin and two prostaglandin metabolites (15-keto-13,14-dihydro- $\text{PGF}_{2\alpha}$  and 11-ketotetranor  $\text{PGF}$  metabolites) were measured in serial blood samples taken premenstrually and during menstruation. Five women with premenstrual pain gave 7-9 blood samples at intervals of 30 minutes on the day preceding the onset of menstruation. From five women with severe primary dysmenorrhea a corresponding series of blood samples were taken during the first day of menstruation. Two groups of five women with no symptoms served as controls either premenstrually or during menstruation.

In the women with premenstrual pain the vasopressin concentrations were significantly higher than in the corresponding control group. Even higher and markedly fluctuating vasopressin levels were found in the women with dysmenorrhea who, in general, had more intense pain than the women with premenstrual symptoms. In the groups with dysmenorrhea there was also a significant elevation in plasma concentration of the  $\text{PG}$  metabolites. Such an increase was not seen in the group with premenstrual pain.

It is concluded that the pathophysiology of premenstrual pain could involve increased vasopressin secretion. The more severe pain in primary dysmenorrhea seems to be the result of a combined effect of vasopressin and  $\text{PGF}_{2\alpha}$ .

## INTRODUCTION

Young women frequently suffer from primary dysmenorrhea, often in combination with tension and lower abdominal pain premenstrually (12), but the etiology of these symptoms is still largely obscure. In dysmenorrhea increased plasma levels of both arginine vasopressin (VP) and a prostaglandin (PG) metabolite have been demonstrated (7,10). Both VP and  $\text{PGF}_{2\alpha}$  are effective uterine stimulants which could contribute to the increased myometrial activity, reduced uterine blood flow and pain in this condition (2). Recent data suggest a relationship between VP and certain PGs, since VP infusion, in addition to increased uterine activity, also pro-

duces an increase in plasma levels of PGF metabolites (11).

Premenstrually, the PGs might be of minor importance, since the increased endometrial synthesis mainly starts after the onset of menstrual bleeding (7). On the other hand VP could well contribute to the induction of premenstrual pain and also, because of its effect on the water balance, to the fluid retention which is a frequent symptom in premenstrual tension.

In the present study the plasma concentrations of VP and two PGF metabolites were investigated in women with pain before the onset of bleeding and in women with painful menstruation. Since uterine blood flow and symptoms in primary dysmenorrhea may show marked fluctuations (1), we felt it of interest to obtain frequent serial plasma samples in order also to study the short time variation of VP and PGs and their relation to the degree of pain.

#### PATIENTS AND METHODS

Twenty nonparous women aged 17 - 23 years were included in the study. Their menstrual cycles were regular, bleeding occurring at an interval of 27 to 32 days and with a duration of 4 to 6 days. None of the women had signs of any gynecological disease. They used no oral contraceptives or other drugs during the period of the study, and none of them had an intrauterine device. The project was approved by the local ethical committee.

The participating women were selected so that they belonged to one of four groups. The first group of five women had a continuous lower abdominal ache with occasional cramps, the pain starting 1 to 3 days before the onset of bleeding. Frequently they also had edema and mood changes premenstrually, and dysmenorrhea during menstruation. From these women 7 to 9 blood samples were obtained at 30 minute intervals starting 24 to 6 hours before the onset of menstruation. A second group of five women had no premenstrual symptoms and served as controls giving blood samples with the same time intervals. The lengths of their cycles did not differ from those of the pain group, and sampling started at corresponding times before onset of bleeding.

A third group of women had primary dysmenorrhea as the main symptom, with severe colicky pain often combined with nausea, vomiting, diarrhea and feeling of chill. From these women 7 to 9 blood samples were also

taken at 30 minutes intervals, but starting 1 to 3 hours after the onset of bleeding. A fourth group was a control group of five women without menstrual pain giving blood samples at the corresponding times after the onset of bleeding.

The blood samples were drawn from an indwelling venous catheter in one arm, and throughout the time of sampling the women rested in supine position. Each time a blood sample was obtained the women were asked about the intensity of pain, which was graded as no pain (0), light (1), moderate (2) or severe (3).

The plasma concentrations of VP and two types of prostaglandin F metabolites (15-keto-13,14-dihydro-PGF<sub>2α</sub> and 11-ketotetranor PGF metabolites) were determined in each sample using specific radioimmunoassays. These have been described in previous publications (4,5,10). The two PGF metabolites differ in the respect that 15-ketodihydro-PGF<sub>2α</sub> is formed immediately whereas 11-ketotetranor PGF metabolites are more degraded and in general reach their peak levels in the blood after a delay period of about 15 to 30 minutes (6). In addition to this later appearance the 11-ketotetranor metabolites are more long-lived in the circulation than the 15-ketodihydro-PGF<sub>2α</sub> compounds (6). Because of this difference in kinetics, levels of the 15-ketodihydro metabolite were related to VP levels and pain intensity recorded at the same time of sampling, whereas those of the 11-ketotetranor metabolites were related to events registered 30 min earlier.

Osmolality and the concentrations of estradiol and progesterone were also measured in the first samples of each series. The samples for hormonal analyses were taken in chilled heparinized tubes and centrifuged immediately, and the plasma was stored deep frozen at -20 °C until assayed.

Statistical comparison of data was performed using Student's t-test, with the exception of concentrations of VP and the two prostaglandin F metabolites during different degrees of pain (Table II). In those instances Wilcoxon's test was used, since the observations were not normally distributed.

## RESULTS

The plasma concentrations of VP and PG metabolites in the different groups are shown in Table I. In addition, plasma concentrations of VP, 15-ketodihydro-PGF<sub>2α</sub> and 11-ketotetranor PGF metabolites representing typical

findings in relation to pain in individuals from the different groups are illustrated in Figs 1 and 2.

In the group with premenstrual pain the VP concentrations were significantly higher than in the corresponding control group ( $p < 0.001$ ). The fluctuations in the plasma levels between different samples in each series were limited (Table I, Fig. 1). The concentration of PG metabolites did not differ significantly between the two groups studied premenstrually.

In the women with dysmenorrhea and ongoing bleeding, high and markedly fluctuating levels of both VP and the two types of PG metabolites were found (Table I, Fig. 2). They were all significantly higher than in the control group with painless menstruation ( $p < 0.001$ ,  $p < 0.01$  and  $p < 0.001$ , respectively). The levels of both types of PG metabolites were also significantly higher than in the women with premenstrual pain ( $p < 0.001$ ).

The pain intensity varied relatively little during the sampling sessions in the women with premenstrual pain, who never reported that the pain was more than moderate (Table II, Fig. 1). With reservations for grouping data according to the women's subjective gradation of pain the concentration of VP seemed to vary with the degree of symptoms. The level was significantly higher in samples taken during moderate than during light pain ( $p < 0.05$ ). No such difference was seen premenstrually in the two PG metabolites.

In the women with primary dysmenorrhea the pain intensity varied considerably. It could be light, moderate or severe in the same woman during the 3 to 4 hours of sampling (Table II, Fig 2). With the same reservations as above concerning subjectivity a significant difference between blood samples taken during severe and light pain was seen in both the level of VP and the two PG metabolites ( $p < 0.05$  in all three cases). For the 15-ketodihydro-PGF<sub>2 $\alpha$</sub>  metabolite there was also a significant difference in concentrations in samples taken during severe than during moderate pain ( $p < 0.01$ ).

Osmolality and plasma levels of ovarian hormones in the different groups are shown in Table III. The only difference between the pain groups and the corresponding control groups was seen in the plasma levels of estradiol premenstrually. It was significantly higher in the women with premenstrual pain than in the women without symptoms ( $p < 0.05$ ).

Table I. Plasma concentrations of vasopressin (VP), 15-ketodihydro-PGF<sub>2α</sub> and 11-ketotetranor PGF metabolites in four different groups of women

|                      | Woman | Number of samples | VP<br>μU/mL |       | 15-ketodihydro-PGF <sub>2α</sub><br>pmol/l |       | 11-ketotetranor PGF<br>pmol/l |       |
|----------------------|-------|-------------------|-------------|-------|--------------------------------------------|-------|-------------------------------|-------|
|                      |       |                   | Mean        | ± SEM | Mean                                       | ± SEM | Mean                          | ± SEM |
| PREMENSTRUAL PAIN    | A     | 7                 | 1.1         | 0.1   | 256                                        | 6     | 334                           | 7     |
|                      | B     | 7                 | 1.7         | 0.2   | 295                                        | 8     | 344                           | 30    |
|                      | C     | 8                 | 1.3         | 0.1   | 199                                        | 9     | 291                           | 14    |
|                      | D     | 7                 | 1.3         | 0.1   | 229                                        | 11    | 276                           | 6     |
|                      | E     | 9                 | 1.8         | 0.2   | 224                                        | 11    | 267                           | 12    |
| Mean<br>± SEM        |       |                   | 1.4<br>0.1  |       | 245<br>16                                  |       | 302<br>15                     |       |
| NO PREMENSTRUAL PAIN | F     | 7                 | 0.4         | 0.1   | 239                                        | 7     | 317                           | 8     |
|                      | G     | 7                 | 0.4         | 0.1   | 227                                        | 17    | 328                           | 16    |
|                      | H     | 7                 | 0.6         | 0.1   | 236                                        | 14    | 283                           | 9     |
|                      | I     | 8                 | 0.4         | 0.1   | 210                                        | 9     | 263                           | 9     |
|                      | J     | 7                 | 0.3         | 0.1   | 282                                        | 11    | 287                           | 12    |
| Mean<br>± SEM        |       |                   | 0.4<br>0.1  |       | 239<br>12                                  |       | 295<br>12                     |       |
| DYSMENORRHEA         | K     | 7                 | 2.5         | 0.4   | 501                                        | 30    | 529                           | 32    |
|                      | L     | 7                 | 2.4         | 0.3   | 514                                        | 39    | 566                           | 40    |
|                      | M     | 7                 | 1.7         | 0.3   | 484                                        | 30    | 567                           | 44    |
|                      | N     | 9                 | 2.0         | 0.2   | 450                                        | 27    | 534                           | 39    |
|                      | O     | 9                 | 1.3         | 0.1   | 323                                        | 21    | 430                           | 20    |
| Mean<br>± SEM        |       |                   | 2.0<br>0.9  |       | 444<br>36                                  |       | 525<br>25                     |       |
| NO DYSMENORRHEA      | P     | 7                 | 0.3         | 0.1   | 237                                        | 9     | 271                           | 14    |
|                      | Q     | 7                 | 0.5         | 0.1   | 219                                        | 9     | 284                           | 16    |
|                      | R     | 7                 | 0.8         | 0.1   | 317                                        | 18    | 358                           | 14    |
|                      | S     | 9                 | 0.5         | 0.1   | 252                                        | 6     | 270                           | 7     |
|                      | T     | 9                 | 0.6         | 0.1   | 291                                        | 14    | 394                           | 20    |
| Mean<br>± SEM        |       |                   | 0.5<br>0.2  |       | 263<br>18                                  |       | 315<br>25                     |       |

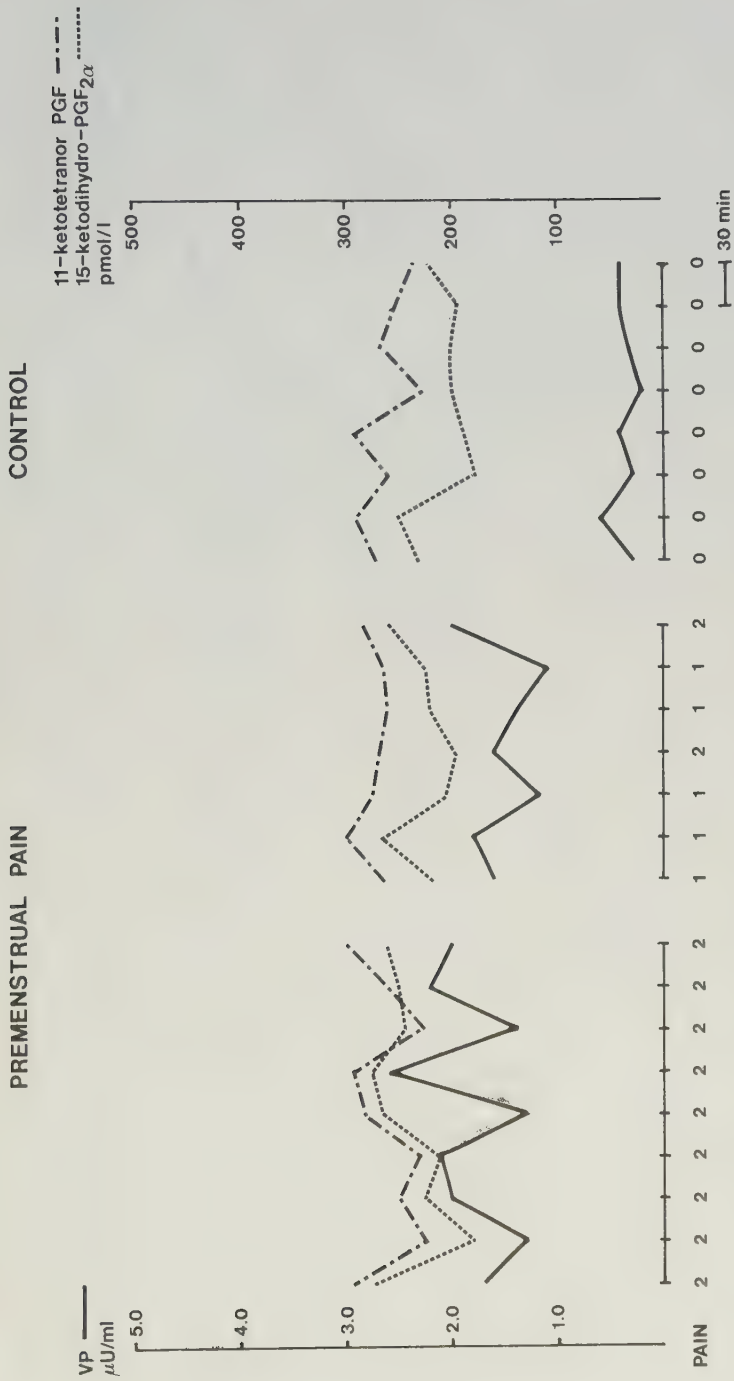


Fig. 1. Plasma concentrations premenstrually of VP, 15-ketodihydro-PGF<sub>2α</sub> and 11-ketotetranor PGF metabolites. The two diagrams on the left shows typical results from women with light (1) or moderate (2) pain and that on the right results from a woman with no symptoms (0). The samples were obtained at 30 minutes interval starting 24 to 20 hours before onset of menstruation.



Table II. Pain intensity and plasma concentrations of vasopressin (VP), 15-ketodihydro-PGF<sub>2α</sub> and 11-ketotetranor PGF metabolites in five women with premenstrual pain and in five women with dysmenorrhea. Note that the levels of 11-ketotetranor metabolites are grouped according to pain intensity 30 minutes before sampling

|                   | Number of samples | Pain intensity | VP<br>μU/ml |       | 15-ketodihydro-PGF <sub>2α</sub><br>pmol/l |       | 11-ketotetranor PGF (-30 min)<br>pmol/l |       |
|-------------------|-------------------|----------------|-------------|-------|--------------------------------------------|-------|-----------------------------------------|-------|
|                   |                   |                | Mean        | ± SEM | Mean                                       | ± SEM | Mean                                    | ± SEM |
| PREMENSTRUAL PAIN | 24                | Light          | 1.4         | 0.1   | 245                                        | 20    | 317                                     | 12    |
|                   | 14*               | Moderate       | 1.7         | 0.2   | 241                                        | 18    | 278                                     | 9     |
|                   | 0                 | Severe         | -           | -     | -                                          | -     | -                                       | -     |
| DYSMENORRHEA      | 11                | Light          | 1.6         | 0.2   | 418                                        | 25    | 468                                     | 17    |
|                   | 17                | Moderate       | 1.9         | 0.3   | 388                                        | 23    | 515                                     | 31    |
|                   | 11                | Severe         | 2.3         | 0.3   | 527                                        | 30    | 578                                     | 31    |

\* Nine of these samples were obtained from one woman (Fig. 1).

Table III. Osmolality (OSM) and plasma concentrations of 17- $\beta$ -estradiol ( $E_2$ ) and progesterone (P) in the four different groups of women

|                      | N | OSM mosmol/kg |           | E pmol/l |           | P nmol/l |           |
|----------------------|---|---------------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|
|                      |   | Mean          | $\pm$ SEM | Mean     | $\pm$ SEM | Mean     | $\pm$ SEM |
| PREMENSTRUAL PAIN    | 5 | 293           | 4         | 340      | 39        | 1.8      | 0.8       |
| NO PREMENSTRUAL PAIN | 5 | 288           | 3         | 222      | 28        | 1.5      | 0.7       |
| DYSMENORRHEA         | 5 | 289           | 4         | 224      | 29        | 1.0      | 0.4       |
| NO DYSMENORRHEA      | 5 | 284           | 3         | 186      | 18        | 1.2      | 0.5       |

## DISCUSSION

In the women with premenstrual pain the plasma concentration of VP was significantly higher than in the corresponding control group. Both premenstrually and during menstruation the degree of pain as estimated by the women was related to plasma parameters at each time of sampling. Results from different individuals were then grouped into those obtained during light, moderate or severe subjective pain with subsequent wide variations in VP and PG metabolites within the different subgroups. In spite of the ensuing uncertainty caused by this comparison of pain in different individuals, the VP level premenstrually seemed higher in samples taken during moderate than during light pain. This suggests that VP might be involved in the pathophysiology of this condition. Biosynthesis of  $PGF_{2\alpha}$ , however, seems to be of minor importance in the premenstrual pain, since no significant elevation in the levels of PG metabolites was seen.

Another interesting observation premenstrually was the significantly higher estradiol concentration in the women with symptoms than in the control group. This increased estradiol level could have contributed to the rise in VP secretion, in view of recent data showing a stimulating effect of this hormone on VP secretion (3). The rise in VP levels in women with premenstrual complaints could not only induce painful uterine contractions but also contribute to water retention and edema. In fact

it has previously been suggested that estrogen induced water retention is mediated by VP (9).

In the women with dysmenorrhea the plasma concentration of VP was higher than in any other group, and marked fluctuations were also seen between individual samples throughout the series. In these women the biosynthesis of  $\text{PGF}_{2\alpha}$  was also elevated as reflected in a pronounced rise in the levels of  $\text{PGF}$  metabolites. A co-variation with the intensity of pain and plasma levels of both VP and the two  $\text{PG}$  metabolites was suggested by the significantly higher levels during severe than during light symptoms. Note that the 11-ketotetranor metabolite levels were related to the degree of symptoms reported 30 minutes previously. This is in agreement with the later formation and the longer existence of these metabolites in the circulation (6).

In general the dysmenorrheic women reported more intense pain than the women with premenstrual symptoms. This could be due to the combined effect of the increased VP secretion and the rise in  $\text{PGF}_{2\alpha}$  production. The interaction of these two effective uterine stimulants is still not quite clear but we have previously found that induction of dysmenorrhea-like uterine activity with lysine VP causes a rise in plasma levels of  $\text{PG}$  metabolites (11). In contrast, infusion of  $\text{PGF}_{2\alpha}$  to healthy parous volunteers in a concentration causing a marked increase in uterine activity and light to moderate dysmenorrhea-like symptoms did not affect VP secretion (11). Thus, the elevated levels of circulating VP could at least partly cause the increased  $\text{PGF}_{2\alpha}$  synthesis in dysmenorrhea whereas the contrary is unlikely. A stimulating effect of dysmenorrheic pain in itself on the release of VP is hard to exclude but if so, this VP in turn could accentuate the dysmenorrheic symptoms. However, in an earlier study we found this mechanism to be of minor importance since the high VP level in a group of dysmenorrheic women remained unchanged after pain relief had been obtained by treatment with an inhibitor of  $\text{PG}$  synthesis (10). These data together with the present results give firm support to the concept that VP is also involved in the etiology of primary dysmenorrhea. Further support for this statement has been obtained in studies with a recently developed substance, deamino-ethyl-oxytocin, which competitively inhibits VP effects on the uterus (8). Preliminary results with this drug have shown a significant reduction of pain in women with primary dysmenorrhea, and it could thus be an interesting therapeutic alternative to the more well established  $\text{PG}$  synthesis inhibitors.

## ACKNOWLEDGMENTS

This study was supported by Ferring AB, the Swedish Medical Research Council (grant number 17X-06571, 03P-5804 and 03X-05915), the University of Lund, Sweden and the Swedish Council for Forestry and Agricultural Research.

## REFERENCES

1. Åkerlund, M., Andersson, K.-E. & Ingemarsson, I.: Effects of terbutaline on myometrial activity, uterine blood flow, and lower abdominal pain in women with primary dysmenorrhea. *Br J Obstet Gynaecol* 83: 673, 1976.
2. Åkerlund, M.: Pathophysiology of dysmenorrhea. *Acta Obstet Gynecol Scand Suppl* 87:27, 1979.
3. Forsling, M.L., Åkerlund, M. & Strömberg, P.: Effect of ovarian steroids on vasopressin secretion. *J Endocrinol* 95:147, 1982.
4. Granström, E. & Kindahl, H.: Radioimmunoassay of the major plasma metabolite of PGF<sub>2α</sub>, 15-keto-13,14-dihydro-PGF<sub>2α</sub>. *Methods Enzymol* 86:320, 1982.
5. Granström, E. & Kindahl, H.: Radioimmunoassay of 5α,7α-dihydroxy-11-ketotetranorprostaglandin-1,16-dioic acid, a major prostaglandin F metabolite in blood and urine. *Methods Enzymol* 86:339, 1982.
6. Granström, E., Kindahl, H. & Swahn, M.-L.: Profiles of prostaglandin metabolites in the human circulation. Identification of late-appearing, long-lived products. *Biochem Biophys Acta* 713:46, 1982.
7. Lundström, V. & Gréen, K.: Endogenous levels of prostaglandin F<sub>2α</sub> and its main metabolites in plasma and endometrium of normal and dysmenorrheic women. *Am J Obstet Gynecol* 130:640, 1978.
8. Melin, P., Vilhardt, H., Lindberg, G., Larsson, L.-E. & Åkerlund, M.: Inhibitory effect of O-alkylated analogues of oxytocin and vasopressin on human and rat myometrial activity. *J Endocrinol* 88:173, 1981.
9. Skowsky, W.R., Swan, L. & Smith, P.: Effects of sex steroid hormones on arginine vasopressin in intact and castrated male and female rats. *Endocrinology* 104:105, 1979.
10. Strömberg, P., Forsling, M.L. & Åkerlund, M.: Effect of prostaglandin inhibitors on vasopressin levels in women with primary dysmenorrhea. *Obstet Gynecol* 58:206, 1981.
11. Strömberg, P., Åkerlund, M., Forsling, M.L. & Kindahl, H.: Involvement of prostaglandins in vasopressin stimulation of the human uterus. *Br J Obstet Gynaecol*. In press.
12. Widholm, O.: Dysmenorrhea during adolescence. *Acta Obstet Gynecol Scand Suppl* 87:61, 1979.



